



**VNiVERSIDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**DETERMINACIÓN MOLECULAR DE HERPESVIRUS EN BIOP-
SIAS DE PIEL DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE DE
PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS. POSIBLE RELACIÓN EN
EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD INJERTO CONTRA
HUÉSPED CUTÁNEA.**

MARÍA DEL CARMEN FRAILE ALONSO

DIRECTORES: ÁNGEL SÁNTOS-BRIZ TERRÓN

LOURDES VÁZQUEZ LÓPEZ

LUIS FÉLIX VALERO JUAN

TUTOR: ANTONIO JESÚS ÁLVAREZ-MORUJO SUÁREZ

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA E HISTOLOGÍA HUMANAS

FACULTAD DE MEDICINA

A mis padres y a Lauri,

por inculcarme el valor del esfuerzo, del trabajo, del conocimiento y de la libertad.

A los pacientes,

por recordarme, cada día, la importancia de estos valores. Este trabajo es por y para ellos.

Es de bien nacido ser agradecido, por ello, quiero dar las gracias:

- A los directores de este trabajo, el Dr. Ángel Santos-Briz Terrón, la Dra. Lourdes Vázquez López y el Dr. Luis Félix Valero Juan, por la confianza depositada en mi para llevar a cabo esta tesis y por las horas de trabajo que han dedicado para que saliera adelante.

- A la Dra. Manuela Yuste Chaves, por su apoyo y su aliento incansables, en los momentos de debilidad. Gracias por tu honestidad.

- A Estefanía Moyano Sanz, técnico de Anatomía Patológica, por sus horas de trabajo e ilusión invertidas en estos resultados.

- Al Dr.- en Filología Francesa- Íñigo Sánchez Paños y a la Prof^a. Elena Cano , por sus correcciones de estilo y sus enseñanzas desde la niñez.

- A todos aquellos compañeros, adjuntos y residentes, del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Salamanca, con los que tuve la suerte de compartir trabajo durante los cuatro años de formación como residente. De cada uno de vosotros aprendí y formáis parte de lo que soy.

- A los compañeros del Hospital de Txagorritxu, con los que crecí como dermatóloga. Ellos me animaron a finalizar esta tesis y me hicieron felices los años de trabajo compartidos.

- A mis padres y a Lauri: sois un gran ejemplo de trabajo y lucha. Vosotros procurasteis siempre la mejor formación y me disteis la oportunidad de es-

coger con libertad mi profesión. Os estaré eternamente agradecida.

- A Joaquín, por tu apoyo en todos estos meses de trabajo y de esfuerzo, por tu generosidad y por confiar siempre en mí.

I. MOTIVACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio nace de la necesidad de dar respuesta precoz y específica a las consultas interdepartamentales formuladas al Servicio de Dermatología, desde el Servicio de Hematología. La mayoría de estas interconsultas eran referidas a pacientes sometidos a trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH), quienes presentaban, durante los primeros meses postrasplante, un cuadro clínico inespecífico, consistente en exantema cutáneo morbiliforme, acompañado o no en fiebre, náuseas y diarrea. Estas características clínicas aparecen compartidas por enfermedades que pueden concurrir en estos enfermos: enfermedad injerto contra huésped (EICH), con afectación cutánea, infección o reactivación viral y reacción cutánea adversa a medicamentos (RCAM), lo cual dificulta el diagnóstico rápido y acertado que deseamos.

La práctica clínica diaria incluía la realización sistemática de una biopsia cutánea del exantema, que en gran medida acotaba las posibilidades diagnósticas. Pero, hay una parte de estas biopsias, que muestran rasgos histopatológicos superponibles de las tres posibilidades diagnósticas mencionadas anteriormente. La inespecificidad clínico-patológica del cuadro, puede llevar al retraso en el diagnóstico(1), (2) con consecuencias fatales.

Este trabajo se ha realizado con el objetivo general de acortar el tiempo y mejorar la precisión del diagnóstico para beneficio global de estos pacientes.

II. INTRODUCCIÓN

1. ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH)

La enfermedad de injerto contra huésped es el resultado de la agresión inmunológica de los tejidos del paciente que recibe el injerto mediada por las linfocitos del donante que reconocen a dichos tejidos como elementos extraños.

Para que se produzca la enfermedad de injerto contra huésped, es condición *sine qua non* un paciente inmunodeprimido y una transferencia de linfocitos activos de otro paciente, bien sea de precursores hematopoyéticos de sangre periférica, médula ósea o cordón umbilical o bien, de componentes sanguíneos no irradiados en una transfusión.

A continuación describimos, en líneas generales, el trasplante de precursores hematopoyéticos.

(a) TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS

Las primeras investigaciones sobre esta técnica datan de los años 60. El trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH) consiste en transferir células precursoras hematopoyéticas de un donante inmunocompetente sano a otro paciente inmunodeprimido por la enfermedad de base y/o por los tratamientos recibidos previamente.

La capacidad para curar ciertas enfermedades, del TPH es ampliamente reconocida y con ella fueron reconocidos otros dos efectos importantes: injerto-contra-leucemia, ICL, (GVL -graft versus leukemia-) y enfermedad de injerto contra huésped, en adelante, EICH (GVHD -graft versus host

disease-).

- El efecto de injerto-contra-leucemia (ICL), permite erradicar células malignas del paciente trasplantado, debido a su destrucción por los linfocitos activos del donante. De este modo se consigue la eliminación de clones de células malignas, que pudieran ser las responsables de la remisión incompleta o la recaída de la enfermedad que originó el trasplante (3), (4).

- La enfermedad de injerto contra huésped, objeto de nuestra investigación, la describimos en el siguiente apartado.

En publicaciones del año 2000, la tasa anual de trasplantes en el mundo era de 18000 (5). En informes de hace menos de 5 años, esta tasa había alcanzado los 25000 en todo el mundo (6), con expectativa de duplicar los trasplantes no emparentados (no relacionados) (7). En los trasplantes de donante no emparentado (DNE), el donante posee antígenos tisulares (HLA) idénticos al del receptor, pero procede de un registro de donantes, en ningún caso es un miembro de la familia directa del receptor. Ésto evidencia el creciente uso de esta técnica y por tanto, la necesidad de los dermatólogos de saber reconocer sus efectos, manifestaciones clínicas y tratamiento.

(b) FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED.

La enfermedad de injerto contra huésped ha de considerarse una exacerbación o distorsión de la respuesta inflamatoria celular normal (8), (9). Los elementos principales de esta respuesta inflamatoria anómala son:

- Células del hospedador dañadas, bien sea por la enfermedad de base, por los tratamientos quimioterápicos previos, por procesos infecciosos u otros

factores aún por determinar.

- Células del donante funcionantes, injertadas, que reconocen como extrañas a las células del hospedador, tanto con alteraciones previas como sin ellas.

Existen múltiples células y rutas inflamatorias implicadas en el proceso complejo que da lugar al desarrollo de la EICH(10), (11), (9).

Los requerimientos para que esta enfermedad ocurra quedaron descritos por Billingham en 1966. Según este autor, se requieren tres condiciones fundamentales para su desarrollo:

- 1.- El injerto debe contener células inmunológicamente competentes.
- 2.- El receptor debe expresar antígenos tisulares que no están presentes en el tejido trasplantado del donante, es decir, ser un trasplante alogénico. Se denomina alogénico (Del griego *állos* [άλλος], 'otro', y *gennáo*, [γεννάω] 'engendrar') puesto que las células introducidas en el paciente proceden de otro individuo de la misma especie. En contraposición al concepto de trasplante autólogo, en el que las células introducidas proceden del mismo paciente. En los trasplantes autólogos no se produce EICH.
- 3.- El receptor debe ser incapaz de generar una respuesta inmunológica efectiva para destruir las células trasplantadas.

Este fenómeno se produce, por lo tanto, cuando se transfieren tejidos con células inmunocompetentes, ya sean productos sanguíneos, médula ósea u órganos sólidos, de un individuo (donante) a otro (receptor). Se debe a la discordancia entre los antígenos de histocompatibilidad tisular (CMH) entre donante y receptor. En los humanos los CMH están situados en el brazo corto del cromosoma 6, en la región HLA (*human leukocyte antigen*).

A pesar de buscar donantes con antígenos HLA idénticos al receptor, puede seguirse produciendo EICH, esto se debe a diferencias en los antígenos *me-*

nores de histocompatibilidad (mHA), situados en regiones diferentes al HLA. La mayoría de estos antígenos menores se sitúan en la superficie celular.

Como consecuencia de esta reacción de incompatibilidad inmunológica, se producirá una grave inmunodepresión y un retraso en la recuperación del estado inmunológico funcional del receptor; eso condicionará mayor susceptibilidad frente a infecciones.

Para que esta reacción de incompatibilidad inmunológica se produzca han de producirse múltiples interacciones, que los autores han tratado de sistematizar en 3 (7, 12), (8) o 5 etapas (13):

Explicación en 3 fases (11), según la figura 1:

Fase 1: activación de las células presentadoras de antígenos (CPA).

Fase 2: activación, diferenciación y migración de los linfocitos-T del donante.

Fase 3: efectora, tanto celular como inflamatoria.

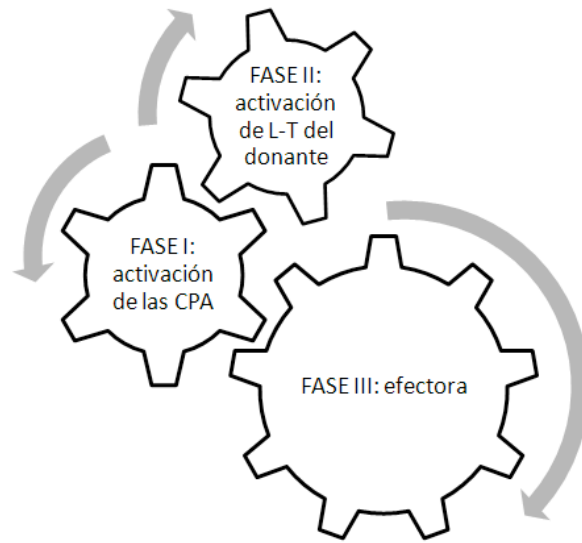


Figura 1: Fases de la EICH.

Estas 3 fases, se pueden dividir en 5 etapas (14), según la figura 2. La fase 2 integraría a las etapas 2, 3 y 4.

El esquema siguiente muestra las 5 etapas descritas a continuación:

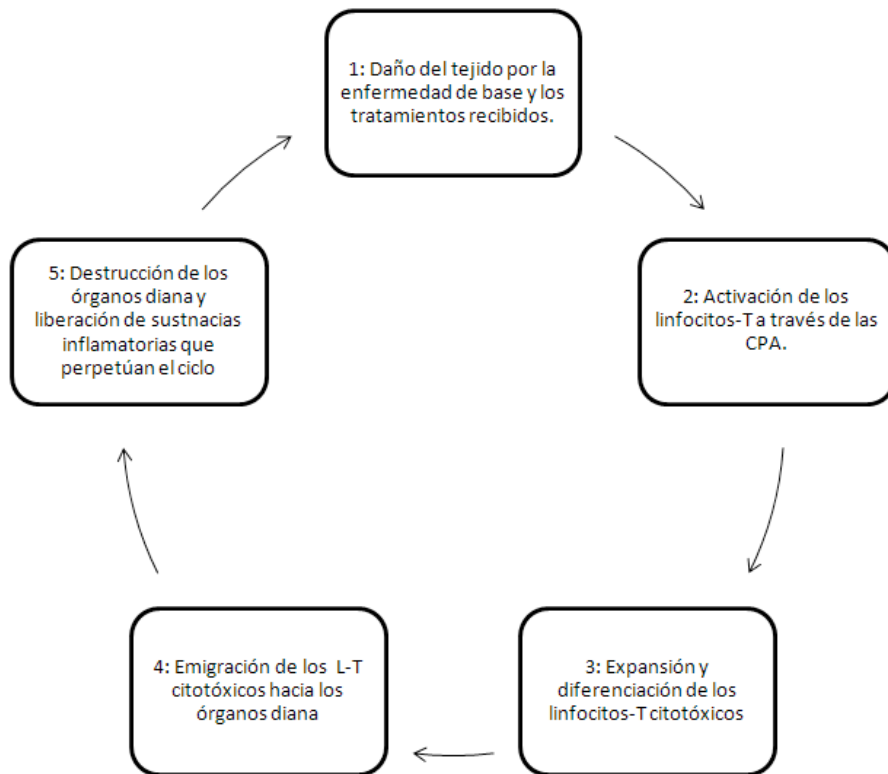


Figura 2: Etapas de la EICH.

Etapa 1: iniciación de la respuesta inmune: el daño producido en los tejidos del huésped por los tratamientos previos al trasplante y por la enfermedad desencadenan una serie de cascadas proinflamatorias que activan a las células presentadoras de antígenos (CPA) y amplifican la respuesta de linfocitos-T.

Etapa 2: activación y coestimulación de linfocitos-T: se produce por la interacción y activación de las CPA con los receptores de linfocitos-T (RLT).

Etapa 3: expansión y diferenciación de linfocitos-T alorreactivos: los linfocitos-T activados, comienzan a multiplicarse y diferenciarse.

Etapa 4: migración de linfocitos-T activados: estos linfocitos se dirigen hacia los tejidos de órganos diana y reclutan a más linfocitos-T efectores, que

expandiran la reacción inflamatoria.

Etapas 5: destrucción de los órganos diana por los linfocitos-T efectores: se produce mediante la liberación de sustancias inflamatorias que a su vez dañan los tejidos de los órganos diana, perpetuando esta respuesta inflamatoria aberrante.

Estos autores (15), en un intento de acotar las sustancias proinflamatorias más frecuentes, estudiaron en más de 400 pacientes una serie de biomarcadores, de los cuales, fueron útiles para discriminar entre pacientes que padecían EICH y los que no los siguientes: receptor de interleukina 2 (IL-2 receptor), factor de necrosis tumoral alfa-1 (TNF- α), IL-8, y factor de crecimiento de hepatocitos. (IL: interleukina) Estos estudios carecen de validación e implantación rutinaria, por ello, precisamos más estudios para considerarlos actualmente con valor pronóstico.

Posteriormente, los mismos autores identificaron a la elafina, como un biomarcador cutáneo de la EICH (16).

Todas las fases y etapas anteriores se pueden resumir en 4 puntos (9), que se refieren al desarrollo de la respuesta inmune en condiciones normales. Pero no debemos olvidar, que el paciente sometido a un TPH tiene muchos condicionantes que hacen que esta respuesta inmune no sea *normal*, por ello, el desarrollo de la EICH no es un proceso simple, lineal ni cíclico (9).

Estos 4 puntos son:



1) Desencadenantes: se considera que los principales iniciadores del proceso son el daño inducido en los tejidos del receptor tanto por la enfermedad de base como por los regímenes de acondicionamiento y la disparidad HLA entre receptor y donante.

2) Sensores: las células presentadoras de antígenos (CPA) son las implicadas en el reconocimiento de los tejidos como extraños. Estas células son las células dendríticas, que en la piel se denominan células de Langerhans y están situadas en la lámina basal. Algunos autores las consideran prescindibles en este proceso (17).

3) Mediadores: fundamentalmente son los linfocito-T del donante, mediante una respuesta aloinmune.

4) Efectores y amplificadores: sustancias inflamatorias, linfocitos-T CD8 citotóxicos y células natural Killer (NK). Son los encargados de producir el daño en los órganos diana y probablemente de amplificar la respuesta inflamatoria.

Esta enfermedad se divide en dos formas: aguda y crónica (18), según el momento evolutivo y las manifestaciones clínicas del proceso. Recientemente se han publicado criterios revisados sobre las manifestaciones clínicas de la misma, incluida la cutánea, y grados de afectación, que son útiles

para objetivar la gravedad tanto para la práctica diaria como para estudios clínicos (18), (19).

Nuestra investigación, se basa fundamentalmente en la forma aguda, que pasamos a definir a continuación.

(c) CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED

Clásicamente, la EICH se había dividido en función de la cronología de la aparición. Se consideraba EICH aguda (EICHa), aquella que ocurría antes del día +100 postrasplante. Se denominaba EICH crónica (EICHc) a aquella cuyo diagnóstico se realizaba en cualquier momento posterior al día +100 post trasplante.

Sin embargo, estas dos categorías clásicas se han redefinido en dos subgrupos cada una de ellas(11), (20).

EICHa:

1. EICHa clásica: aquella que ocurre antes del día +100, con manifestaciones clínicas típicas de EICHa y sin manifestaciones de EICHc.
2. EICHa persistente, recurrente o tardía: ocurre a partir del día +100, con manifestaciones típicas de EICHa y sin manifestaciones de EICHc.

EICHc (20), (21):

1. EICHc clásica: aquella que cursa con características clínicas típicas de EICHc y sin manifestaciones de EICHa.
2. EICHc síndrome de solapamiento: exhibe características clínicas típicas tanto de EICHa como de EICHc. La comunidad científica continúa redefiniendo este concepto para adaptarlo tanto a la práctica clínica como a la in-

vestigación (18).

En ninguna de estas categorías se tiene en cuenta el momento clínico postrasplante de la manifestación de la enfermedad.

(d) FORMA AGUDA DE LA ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED

La EICH se define como aguda cuando ocurre desde los pocos días del trasplante hasta al menos dos meses (desde la semana a los tres meses postrasplante), aunque recientemente se ha redefinido este concepto(11), (20). De este modo, ya no es determinante el tiempo de manifestación de la EICH sino si las manifestaciones clínicas y/o histológicas son compatibles con EICH aguda o crónica.

La incidencia de la EICH aguda varía desde el 10% al 80%, según el grado de histocompatibilidad entre donante y receptor, el número de células T inmunocompetentes en el injerto, la edad del paciente y el regimen profiláctico frente a la EICH. Algunos autores, encuentran intervalos de incidencia más precisos (entre el 50 y el 70%)(22), pero todos ellos, coinciden en la alta frecuencia de esta enfermedad.

Los principales órganos diana de esta enfermedad son la piel, el hígado y el tracto gastrointestinal, (11) aunque puede afectar a cualquier órgano, puesto que es una alteración multisistémica (23). Estos tres principales órganos diana son los referentes para realizar la valoración global de la enfermedad (23).

La piel es el órgano diana más frecuente y precozmente afectado (22),

(24), (25). La lesión cutánea puede marcar el inicio del desarrollo de esta enfermedad, que contribuye a la morbimortalidad del TPH(26).

En la piel se manifiesta (26-29), como un exantema máculo-papular, pruriginoso, que frecuentemente afecta a palmas (Imagen 1), plantas y orejas (zonas acras). Las lesiones incipientes suelen disponerse alrededor de los folículos y blanquear a la digitopresión y suelen consistir en máculas o pápulas. Posteriormente pueden confluir en extensas áreas, que ocasionalmente son descamativas. En los casos más graves, las lesiones progresan de forma generalizada hasta la eritrodermia con formación de grandes ampollas, que se producen por la ruptura de la unión dermo-epidérmica (30). Suelen curar dejando hiperpigmentación residual persistente en las regiones afectadas (26). Se han descrito casos de enfermedad con presentación clínica eczematosa (30).

La confirmación de la sospecha clínica, se realiza mediante el análisis histológico de la piel, que característicamente muestra dermatitis vacuolar de la interfase y queratinocitos necróticos.



Imagen 1: eritema palmar morbiliforme, signo inicial de la enfermedad

(I) CLASIFICACIÓN DE LA GRAVEDAD DE LA PRESENTACIÓN CLÍNICA CUTÁNEA DE LA EICH AGUDA.

Según la afectación de la superficie cutánea y la gravedad de esta afectación, clasificamos a la EICHa en cuatro grados(11), (23), (31) :

EICHa cutánea estadio 1.- Exantema máculo-papular que afecta a menos del 25% de la superficie cutánea (Imagen 2).

EICHa cutánea estadio 2.- Exantema máculo-papular que afecta entre el 25 y el 50% de la superficie cutánea (Imagen 3 y 4).

EICHa cutánea estadio 3.- Eritrodermia.

EICHa cutánea estadio 4.- Formación de ampollas o despegamiento cutáneo.



Imagen 2: EICHa cutánea estadio I: exantema morbiliforme clínicamente

poco evidente.



Imagen 3: EICHa cutánea estadio II: exantema morbiliforme que afecta a más del 25% de la superficie corporal total.

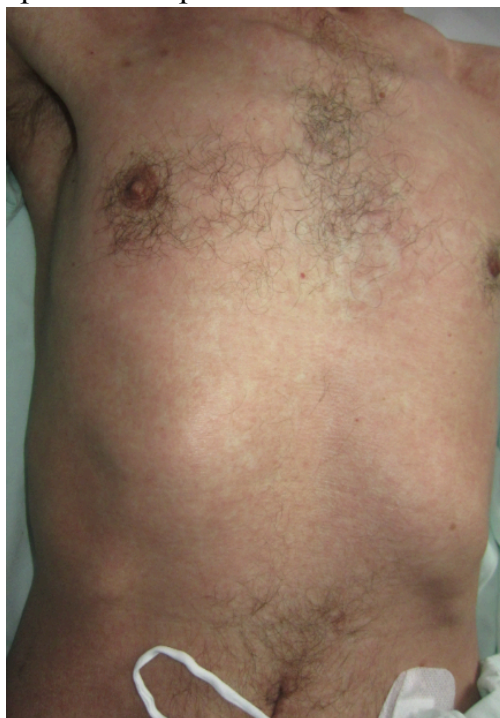


Imagen 4: EICHa cutánea estadio II: exantema morbiliforme que afecta a menos del 50% de la superficie corporal.

Para calcular correctamente la extensión de la enfermedad, sólo debe tenerse en cuenta la piel con signos inflamatorios activos, no los residuales (25). El cálculo de la superficie corporal afectada se realiza en base a la regla de los nueves de Wallace (32). Esta regla se utiliza para valorar la extensión de las quemaduras. Cada área corporal (pierna, muslo, extremidad superior, cabeza) corresponde al 9% de la superficie corporal afectada. Tanto la parte anterior del tronco como la posterior corresponden al 18% (múltiplo de nueve) de la superficie corporal total respectivamente.

(II) CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA EICH AGUDA

Los hallazgos histológicos más frecuentes son (imagen 5): degeneración vacuolar de la unión dermo-epidérmica, desorganización madurativa de la epidermis y queratinocitos necróticos (disqueratosis-degeneración eosinofílica de los queratinocitos). Esta degeneración vacuolar puede apreciarse también en el epitelio de los folículos pilosos, constituyendo un signo precoz de la enfermedad (imagen 6). Cuando la degeneración vacuolar es intensa, se produce la separación de los queratinocitos, dando lugar a ampollas y despegamiento epidérmico. Puede acompañarse de un infiltrado inflamatorio perivascular de intensidad variable.

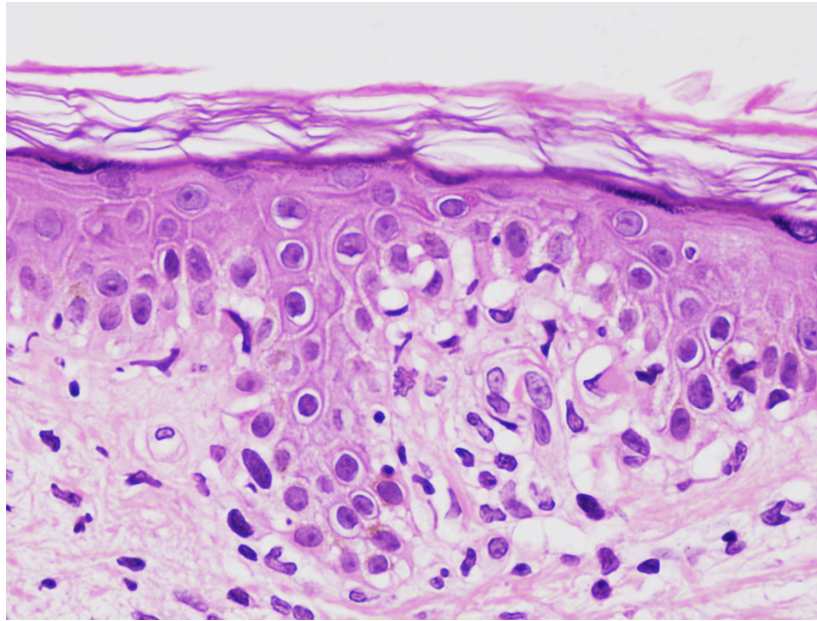


Imagen 5: vacuolización de la membrana basal y disqueratosis

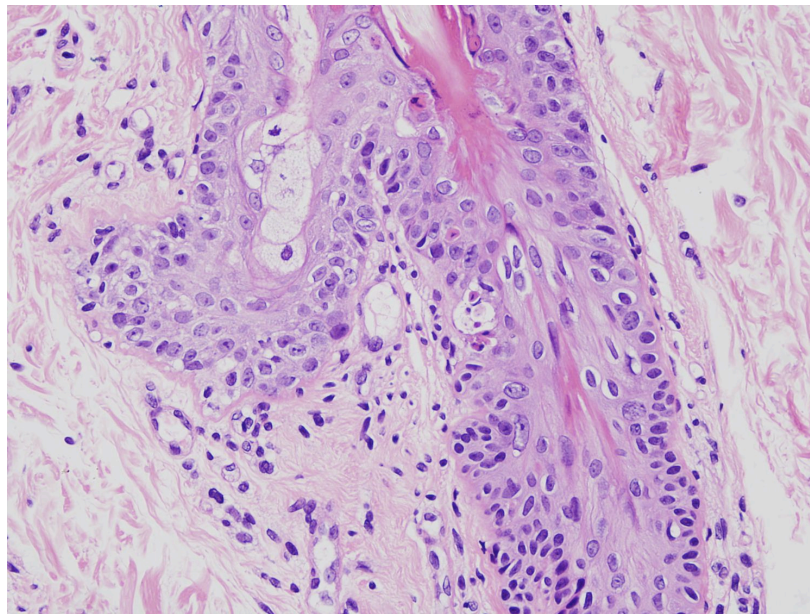


Imagen 6: EICHa cutánea con grado histopatológico II en anejo: se aprecia vacuolización y disqueratosis del epitelio folicular. EICHa en anejos es un marcador precoz de la enfermedad.

Según la afectación histopatológica dividimos la EICHa en los siguientes grados (33) :

EICHa cutánea histológicamente incipiente.- Epidermis normal o con cambios no atribuibles a EICH (imagen 7).

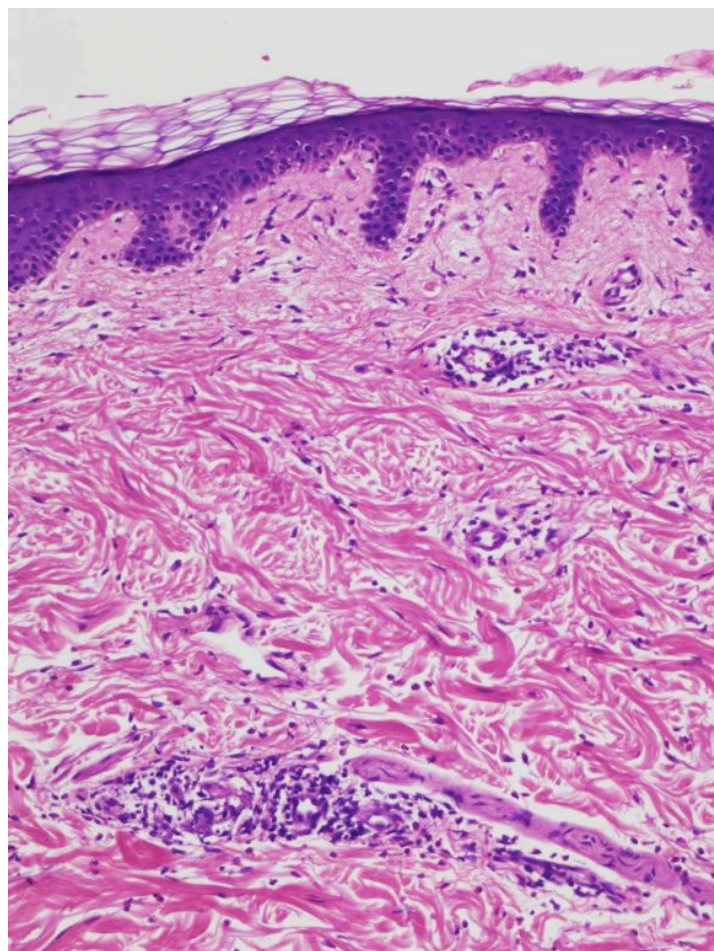


Imagen 7: EICHa cutánea histológicamente incipiente: infiltrado superficial inespecífico.

EICHa cutánea con grado histopatológico I.- Degeneración vacuolar de la lámina basal focal o difusa (imagen 8 y 9).

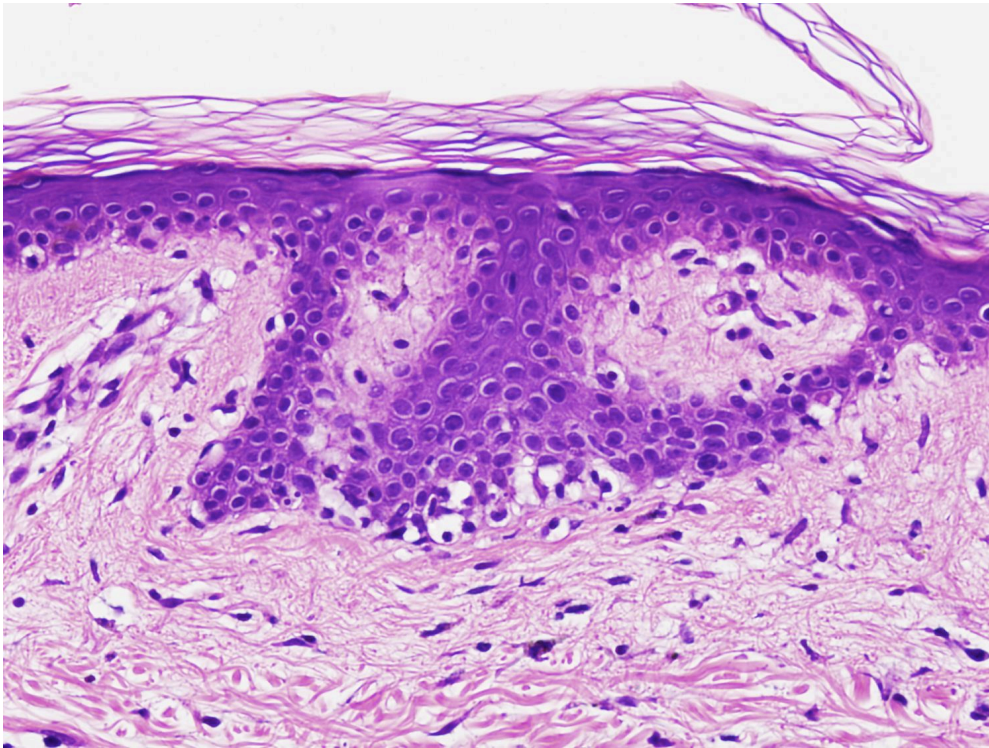


Imagen 8: EICHa cutánea grado I histopatológico: vacuolización de la membrana basal.

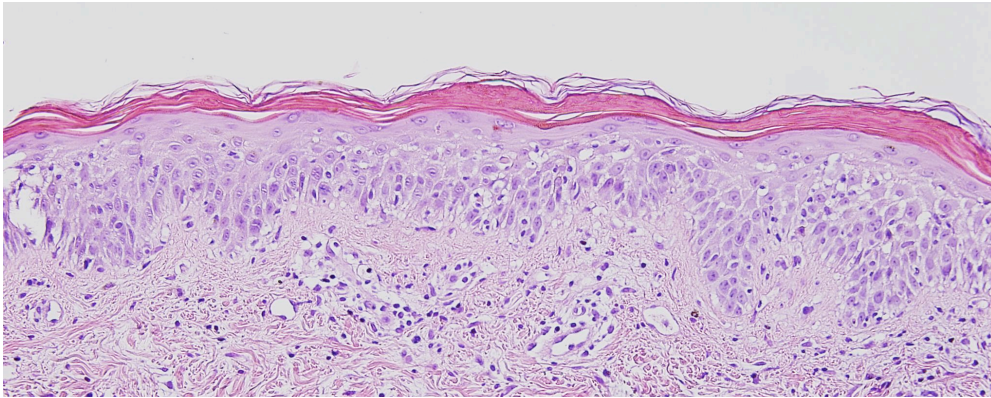


Imagen 9: EICHa cutánea con grado histopatológico I: exocitosis de linfocitos, que es un marcador de gravedad.

EICHa cutánea con grado histológico II.- Disqueratosis en la epidermis o en los folículos pilosos (imágenes 10 y 11).

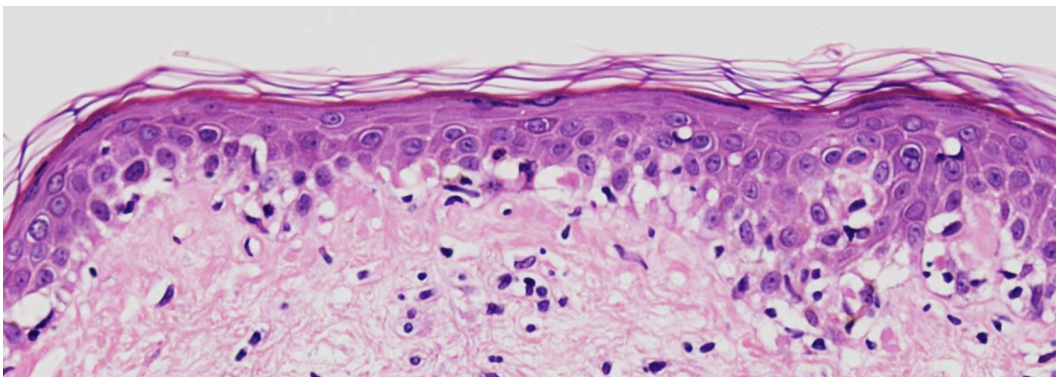


Imagen 10: EICHa cutánea con grado histológico II: vacuolización de la membrana basal y queratinocitos necróticos.

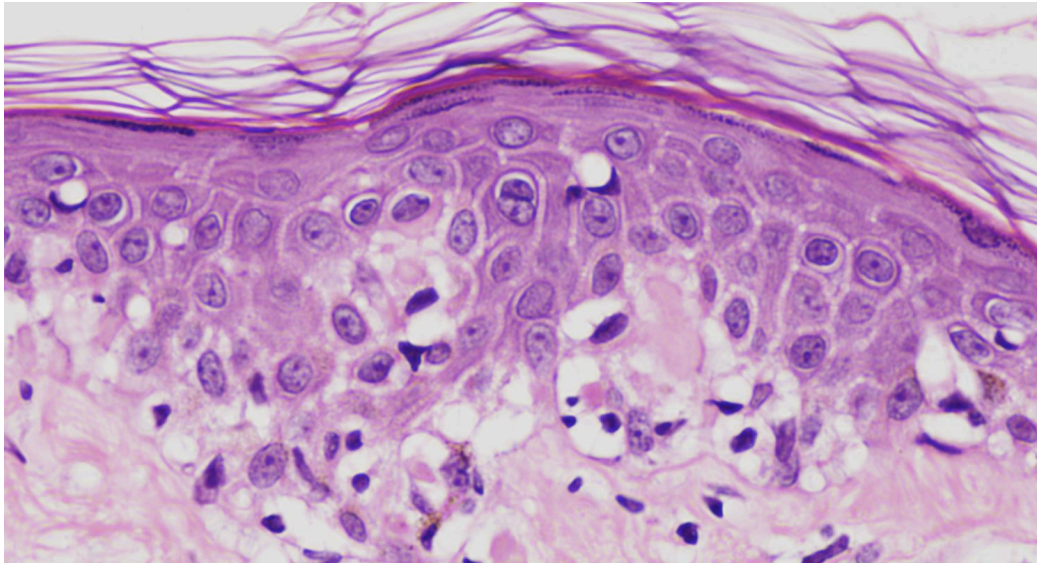


Imagen 11: EICHa cutánea en grado II histológico: linfocitos satélite a los queratinocitos necróticos (satelitosis).

EICHa cutáneo en grado histológico III.- Formación de vesículas o hendidura dermoepidérmica (imagen 12).

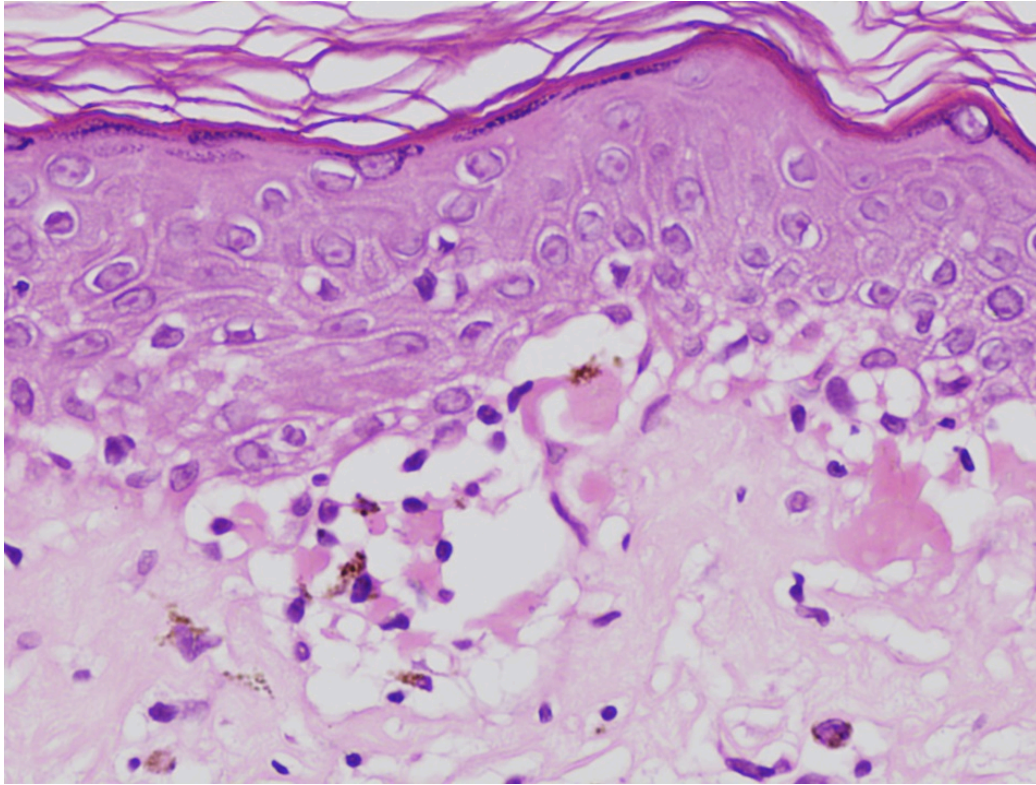


Imagen 12: EICHa cutánea con grado III histológico: formación de hendiduras en la membrana basal.

EICHa cutánea con grado histopatológico IV.- Separación dermoepidérmica completa (imagen 13) o necrosis (imagen 14).

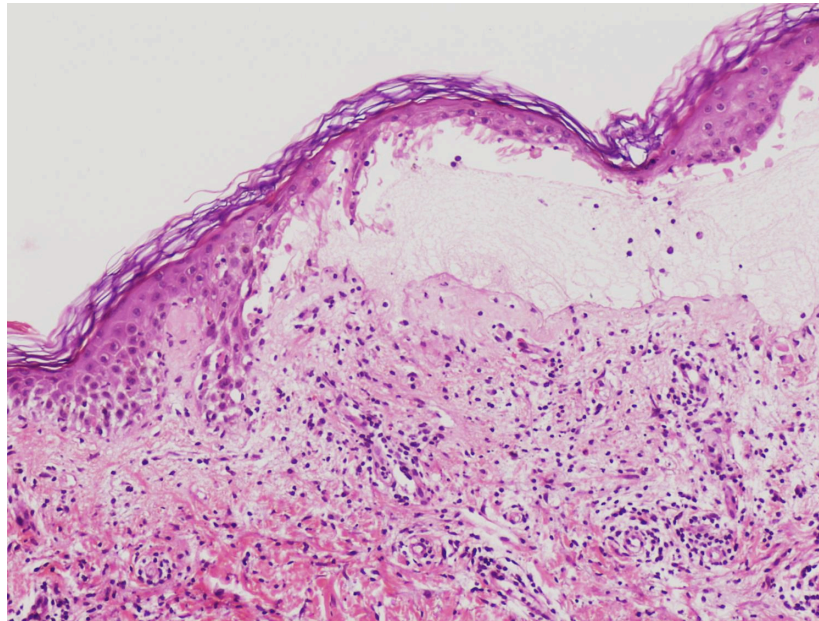


Imagen 13: EICHa cutánea con grado IV histológico: necrosis epidérmica y despegamiento subepidérmico.

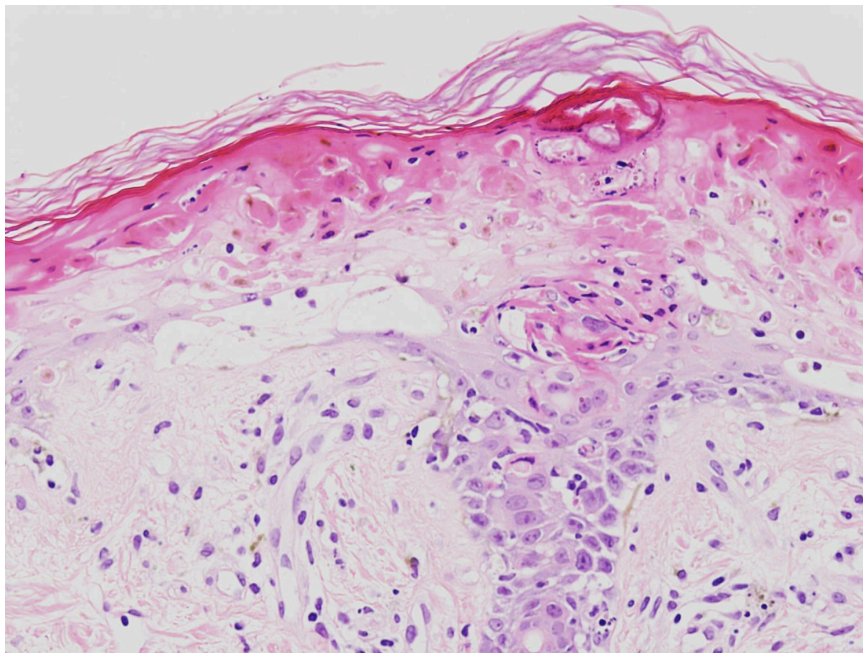


Imagen 14: EICHa cutánea con grado histológico IV: necrosis epidérmica.

Estas características histológicas no son exclusivas ni patognomónicas de esta enfermedad. De hecho, el diagnóstico exclusivamente histopatológico no es fácil, ya que comparte rasgos tanto con otras entidades que acontecen con frecuencia en estos pacientes como con las erupciones por fármacos, por quimioterapia o las infecciones, especialmente las virales(26).

Algunos autores sugirieron la utilidad de las biopsias seriadas durante el desarrollo de la enfermedad como una estrategia útil para el diagnóstico y monitorización de la respuesta al tratamiento(34). Sin embargo, no está implantada de manera sistemática en el cuidado de estos pacientes.

Algunos autores, combinan criterios clínicos e histológicos (35), en el estadiaje de la enfermedad. Actualmente, estos criterios histológicos no están incluidos en la clasificación global de la enfermedad.

Recientemente se han publicado artículos que intentan sistematizar la utilidad diagnóstica de la biopsia, clasificándolas en 4 categorías o grados de confianza (25):

- **No es EICH** : biopsia cutánea y criterios clínicos diagnósticos de otra enfermedad diferente a EICH.
- **No diagnóstica de EICH o posible EICH:** la EICH es considerada como diagnóstico diferencial clínico del cuadro que presenta el paciente. No requiere tratamiento.
- **Equívoca o EICH probable:** No hay evidencia clínica suficiente para el diagnóstico de EICH, pero el cuadro clínico es concordante con la enfermedad y responde al tratamiento.
- **Diagnóstica de EICH:** Histopatología con evidencia de EICH y enferme-

dad presente en otros órganos.

(III) CLASIFICACIÓN GLOBAL DE LA EICHa

La clasificación global de la enfermedad incluye la valoración de los tres órganos diana principales: piel, sistema gastrointestinal e hígado. La tabla 1 muestra cómo ha de valorarse la enfermedad según la afectación de los órganos diana. La tabla 2 muestra la combinación de la afectación de los órganos diana, indicando de este modo el grado global de la enfermedad y la repercusión de la misma.

Estos criterios fueron publicados inicialmente en 1974, por Glucksberg (31), y aunque han sido modificados y adaptados posteriormente (36), permanecen vigentes.

Estadaje y grado de la ECIHa, según todos los órganos diana (37):

CLASIFICACIÓN DE LA EICH AGUDA POR ÓRGANO DIANA			
	PIEL	DIGESTIVO	HEPÁTICO
Estadio 1	Exantema que ocupa menos del 25% de la SCT	Diarrea de 0,5-1 L/día	Bilirrubina entre 2 y 2,9 mg/dL
Estadio 2	Exantema que ocupa entre el 25-50% de la SCT	Diarrea de 1-1,5 L/día	Bilirrubina entre 3 y 5,8 mg/dL
Estadio 3	Eritrodermia	Diarrea de más de 1,5 L/día	Bilirrubina entre 5,9 y 14,9 mg/dL
Estadio 4	Epidermolisis	Dolor abdominal intenso	Bilirrubina de > 14,9 mg/dL

Tabla 1: Clasificación según la afectación del órgano diana afectado.

Adaptada de: (31,36,37); SCT: superficie corporal total; L: litro; mg/dL: miligramos por cada decilitro.

CLASIFICACIÓN GLOBAL DE LA EICH AGUDA			
	PIEL	DIGESTIVO	HEPÁTICO
Grado 1	estadio 1-2	0	0
Grado 2	estadio 3 ó	estadio 1 ó	estadio 1
Grado 3	-	estadio 2 - 3 ó	estadio 2-4
Grado 4	estadio 4 ó	estadio 4	-

Tabla 2: clasificación global de la enfermedad

Recientemente se han publicado una serie de propuestas para adecuar tanto la gradación por órgano diana como global de la enfermedad(38). En lo que respecta a la piel, propone incluir en el grado III de EICHa cutáneo la afectación de más del 50% de la SCT.

Alrededor de 25.000 personas desarrollan EICH agudo al año en el mundo. Esta enfermedad continúa siendo el factor de riesgo más importante de morbilidad tras el TPH (24) . La clasificación global de la enfermedad es considerada el marcador pronóstico más importante tanto del curso clínico como de la mortalidad(35).

En un intento de sistematizar y clasificar el riesgo de los pacientes y la supervivencia global postrasplante en los que desarrollan EICHa, se han publicado una serie de criterios que dividen a los pacientes con riesgo estándar y de alto riesgo. (24)

Los pacientes con riesgo estándar se clasifican en cuatro grupos, dos de ellos con afectación de un órgano diana y los otros dos con afectación de

dos órganos diana. El resto de circunstancias serían consideradas como de alto riesgo.

- Afectación de un órgano:

* Estadio 1-3 de piel

* Estadio 1-2 intestinal

- Afectación de dos órganos:

* Estadio 1-3 de piel con estadio 1 intestinal

* Estadio 1-3 de piel con estadio 1-4 hepático

2. HERPES VIRUS

(a) GENERALIDADES

(I) VIRUS

Los virus o partículas virales están formadas por una cadena de ácidos nucleicos, bien ADN (ácido desoxirribonucleico) bien ARN (ácido ribonucleico) y una envuelta proteica o cápside. La información genética contenida en la cadena de ácidos nucleicos es suficiente para replicarse y codificar las proteínas que forman la cápside, pero necesitan una célula hospedadora que preste sus ribosomas para la traslación de las proteínas. Esta es la razón por la cual los virus son elementos dependientes de un hospedador y precisan infectar nuestras células para su replicación completa.

La mayoría de los virus acceden a nuestro cuerpo vía mucosa, bien por inhalación, por ingestión o por contacto tanto con piel como con mucosas. Esto generalmente ocurre si la función barrera propia de la piel o de las mucosas está alterada o rota.

(II) HERPES VIRUS

De los más de 100 herpes virus conocidos que componen la familia Herpesviridae, 8 afectan a los humanos con mayor frecuencia(39).

Estos 8 herpes virus se dividen en tres subfamilias de acuerdo a similitudes genómicas e infectivas(40), según se muestra en la tabla 3:

- Alpha herpesviridae: HVH-1, HVH-2, VVZ
- Beta herpesviridae: HHV-6, HHV-7, CMV
- Gamma herpesviridae: VEB, HHV-8

VIRUS DE LA FAMILIA HERPESVIRIDAE QUE PRODUCEN INFECCIONES EN EL HOMBRE.		
Grupo I	ADN de doble cadena	
	Género: Caudovirales	
	Sinónimo	Abreviatura
Subfamilia Alphaherpesvirinae		
Virus herpes simple tipo 1	Herpesvirus humano tipo 1	HVH-1
Virus herpes simple tipo 2	Herpesvirus humano tipo 2	HVH-2
Virus varicela-zóster	Herpesvirus humano tipo 3	VVZ
Subfamilia Betaherpesvirinae		
Citomegalovirus humano	Herpesvirus humano tipo 5	CMV
Herpesvirus humano 6	Herpesvirus humano tipo 6	HVH-6
Herpesvirus humano 7	Herpesvirus humano tipo 7	HVH-7
Subfamilia gammahepersvirinae		
Virus de Epstein-Barr	Herpesvirus humano tipo 4	VEB
Herpes virus 8	Herpesvirus humano tipo 8	HVH-8

Tabla 3: clasificación de la familia herperviridae.

Los herpesvirus (HVH) son microorganismos constituidos por dobles cadenas largas de ADN. Se reproducen en el núcleo celular y dan lugar a partículas de inclusión, visibles con tinciones convencionales.

Las principales características infectivas (41) de los herpesvirus son: dependencia celular, latencia, capacidad oncogénica, efectos moduladores indirectos.

(1) Dependencia celular

Es una característica que los herpes virus humanos tienen en común con el resto de la familia de virus. Como hemos explicado anteriormente, estos deben disponer del mecanismo de una célula hospedadora para poder replicarse.

(2) Latencia

Otra de las cualidades infectivas de los herpes virus es la ausencia de eliminación tras la recuperación clínica de la primoinfección. De modo que los virus permanecen acantonados durante toda la vida del individuo. Estas partículas pueden reactivarse en cualquier momento y producir lesiones agudas, similares a las de la primoinfección. Esto es especialmente frecuente en periodos de inmunodepresión, sea esta por la causa que sea.

Además, la infección viral puede ser transmitida mediante donación de médula ósea, de precursores hematopoyéticos o de productos sanguíneos maduros (42).

(3) Capacidad oncogénica

La capacidad oncogénica directa de los herpes virus está ampliamente documentada en la literatura, tanto en el VEB como en el HHV-8. Al resto de la familia de herpesvirus se les reconoce una capacidad oncogénica indirecta que está siendo objeto de investigación.

(4) Efectos moduladores indirectos

Los herpesvirus no solo tienen capacidad oncogénica indirecta, sino que pueden influir en la expresión de otras moléculas inflamatorias y reguladoras, modificando o modulando la expresión génica directa. En los pacientes sometidos a trasplante de precursores hematopoyéticos, estos efectos moduladores se han relacionado con el desarrollo y agravamiento de la EICH.

(b) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 1 O VHS

Tras la primoinfección, este virus permanece acantonado en los ganglios sensitivos del sistema nervioso periférico (SNP) (43).

Más del 80 % de los pacientes con anticuerpos para herpes simple desarrollaba reactivación de la infección alrededor del octavo día postrasplante, lo que conllevaba una alta morbimortalidad. Tras la introducción de la terapia profiláctica con aciclovir, este efecto se redujo drásticamente, alrededor del 1 % (44). Se han publicado reactivaciones agresivas de este virus, como colitis, en pacientes sometidos a TPH(45).

Si el paciente presenta IgG+ previa al trasplante, significa que ha tenido contacto con este virus y que, por consiguiente, el riesgo de reactivación es alto. Esta es la razón por la cual en la mayoría de centros trasplantadores se instaure profilaxis frente a la reactivación herpética con aciclovir. Si el paciente presenta la IgG-, puede ser porque no ha tenido primoinfección o porque, debido a la inmunosupresión, los niveles no son detectables. Por ello, en la mayoría de centros trasplantadores, la profilaxis frente a la reactivación se pauta a todo paciente sometido a TPH, independientemente del estado serológico frente a este tipo de herpes (42).

Algunos autores atribuyen a la positividad serológica para HVH-1 el aumento de riesgo de septicemia debida a estreptococo-alfa (43).

Gratama, en 1987, sugirió un efecto protector frente al desarrollo de EICH al presentar el donante IgG+ frente a HVH-1. Durante la reactivación del HVH-1, las células del donante reaccionarían más rápidamente frente al virus, por un efecto memoria que haría que la reacción inflamatoria fuera más

leve y, por tanto, indujera EICH en menor medida (46).

(c) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 2

Su comportamiento es similar al HVH-1, a pesar de que solo comparten el 50% de su genoma (39). Clásicamente se asociaba con infección en mucosa genital, aunque puede también propagarse por contacto orogenital. Su comportamiento es similar al HVH-1, aunque es menos ubicuo.

(d) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 3 O VIRUS VARICELA ZÓSTER

La primoinfección por este virus suele ocurrir en la infancia. El 95% de los adultos presentan positividad serológica. Tras la primoinfección, queda acantonado en ganglios sensitivos del sistema nervioso periférico (43). Actualmente, tras la introducción en el calendario vacunal, los pacientes no sufren la primoinfección (varicela), pero sí pueden sufrir la reactivación (herpes zóster) tanto en edad infantil como en edad adulta. Los sujetos inmunodeprimidos no son candidatos a esta vacuna, puesto que contiene virus vivos atenuados. En los pacientes sometidos a TPH, no se recomienda hasta al menos dos años postrasplante (41).

Esta infección suele desarrollarse a partir del quinto mes postrasplante, con una media de 227 días en algunas series publicadas (desde el día +45 al +365) (47). En un estudio de 10 pacientes, estos presentaron síntomas abdominales (náuseas, vómitos diarrea, alteración de enzimas hepáticas y pancreáticas) previos a la aparición del exantema cutáneo típico de esta infección, en el día +153 de media, sin haber recibido profilaxis antivíri-

ca (1) . De ahí que sea posible interpretar la afectación visceral por este virus como EICH en pacientes trasplantados, lo que puede llevar a un retraso diagnóstico y terapéutico cuyo desenlace puede ser fatal(1).

Tras la introducción de la profilaxis con aciclovir, la incidencia de esta reactivación, que giraba en torno al 40% (41) en el periodo postrasplante, se redujo significativamente (44) .

(e) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 4 O VIRUS DE EPSTEIN-BARR

Tras la primoinfección, que ocurre en el 95% de la población (41) , el virus permanece acantonado en los linfocitos-B (43) . La reactivación de este virus suele ocurrir entre la segunda y la tercera semana postrasplante, en la mayoría de las ocasiones, sin manifestaciones clínicas evidentes (44) .

Gratama, en 1987, atribuyó a la serología del donante + para VEB un factor protector frente al desarrollo de EICH; análogamente, a la seronegatividad del donante frente a VEB un factor contribuyente al desarrollo de EICH (46) .

Debido a la tendencia a realizar acondicionamientos de intensidad reducida (48) , la mortalidad asociada al trasplante ha disminuido y ha permitido observar el retraso en la reconstitución inmune frente al VEB. Una de las complicaciones postrasplante más grave (49) y rara con que este virus se manifiesta es la enfermedad linfoproliferativa asociada a VEB (49) , (48) , que se ha incrementado acorde al incremento de este tipo de trasplantes.

(f) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 5 O CITOMEGALOVIRUS

El contacto con este virus es frecuente a lo largo de la vida; de hecho, la mayor parte de la población es seropositiva. Tras la primoinfección, queda acantonado en monocitos y linfocitos (43).

En los pacientes inmunodeprimidos, especialmente en los sometidos a TPH, esta infección/reactivación constituye una causa significativa de morbimortalidad (50). La reactivación suele ocurrir alrededor del día +50 (44) (entre 8-9 semanas postrasplante) (51). Otros autores amplían el periodo entre el día +1 y el día +150 posterior al TPH (52).

La complicación más frecuente es la neumonía (51)/neumonitis por CMV cuya incidencia, en la época previa a la profilaxis, se situaba entre el 20% y 30% de los pacientes sometidos a TPH y conllevaba una tasa de mortalidad del 85-90% (53), que se ha reducido al 40-50%, tras la introducción sistemática de profilaxis antivírica postrasplante (44), (54).

Otras formas de manifestación clínica de la reactivación viral son molestias hepáticas, gastrointestinales o retraso en el injerto (42), (55).

El principal factor de riesgo para el desarrollo de la reactivación es la seropositividad del receptor (43) (41). Una de las estrategias para reducir la reactivación es la infusión de células procedentes de pacientes seronegativos (44). Algunos autores sugieren que el riesgo de desarrollo de EICH aumenta si el donante es seropositivo para CMV. Sin embargo, otros atribuyen un papel protector de los anticuerpos frente a CMV tanto en el donante como en el receptor, sugiriendo que esta positividad disminuye la tasa de reactivación viral (43).

De manera rutinaria, se realiza serología y/o carga viral pretrasplante. En el periodo postrasplante se realiza antigenemia o detección mediante PCR (54). Si existe reactivación o primoinfección, se modifica la pauta antiviral de profiláctica a terapéutica (56).

Es uno de los herpesvirus más estudiados e implicados en el desarrollo de EICH, tanto aguda como crónica, en el periodo postrasplante de PH. (57)

(g) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 6

Es un tipo viral descubierto hace 30 años en estudios que describían su apetencia por células linfoides (58). Se estima que el 75% de la población ya ha tenido contacto al año de vida. Entre el 90 y el 100% (41), (59), (60) de los adultos presentan serologías positivas frente a este virus.

En la infancia, el HVH-6 es el causante del exantema súbito (61), también llamada sexta enfermedad. En pacientes sometidos a TPH se manifiesta más frecuentemente como exantema febril morbiliforme (62) y roseoliforme (58). Se han descrito casos de encefalitis (63), retraso en el injerto, supresión de la función medular y neumonía (64).

Su estructura es similar al CMV y más diferente del resto de HVH. Esta similitud estructural podría ser la causa de que sean los tipos de herpes virus más relacionados con la iniciación o cronificación de la EICH. La infección o reactivación por HVH-6 es una de las más relacionadas con la precipitación o agravamiento de la EICH, así como de la pobre respuesta al tratamiento con corticoides (65).

La reactivación de este virus es frecuente en receptores de trasplante tanto de órgano sólido como de precursores hematopoyéticos (66); Suele ocurrir en los primeros meses postrasplante de PH (el 50% en el primer mes (67)). Esta se considera un factor de riesgo independiente asociado a la reactivación de CMV, al retraso en la implantación del injerto y al desarrollo de EICH (68), (65).

El estatus serológico no es suficiente para detectar la reactivación viral y se sugiere el uso de otros métodos como la PCR en fluidos (sangre, exudados de mucosas, líquido cefalorraquídeo) (69).

(h) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 7

La descripción de este tipo viral es reciente (70). Se ha relacionado con exantemas morbiliformes, roseoliformes (71) y pitiriasis rosada persistente. Y se ha implicado, así mismo, en procesos graves como encefalitis o neumonitis y en reacciones cutáneas adversas a medicamentos. Su comportamiento se asemeja al HHV-6.

(i) HERPESVIRUS HUMANO TIPO 8

Este virus se asocia al desarrollo de Sarcoma de Kaposi clásico y a otros desórdenes linfoproliferativos. En pacientes inmunodeprimidos se asocia a complicaciones no relacionadas con la neoplasia. En el caso de los pacientes sometidos a TPH se relaciona con retraso o fallo del injerto. (72)

(j) ENTEROVIRUS

El kit de estudio molecular de herpes virus utilizado para este estudio incluía también análisis de enterovirus. Hemos desechado estos datos, puesto que no añadían elementos de relevancia clínica para nuestra muestra.

(k) ESTRATEGIAS DE INMUNIZACIÓN FRENTE A LOS HERPESVIRUS HUMANOS.

Existen 2 estrategias de inmunización:

- **Inmunización activa:** solo disponemos de una vacuna comercializada para la prevención de la primoinfección frente al VVZ. En el calendario vacunal de 2015 de la comunidad autónoma de Castilla y León, está indicada para los pacientes que a los 12 años no hayan pasado la enfermedad y no hayan sido vacunados previamente. Recientemente, se ha introducido en las recomendaciones del calendario vacunal, el recuerdo de inmunización frente a VVZ en pacientes mayores de 60 años. Los pacientes que padezcan discrasias sanguíneas están excluidos de esta indicación, así como los pacientes sometidos a TPH (73).

Algunos autores han obtenido experiencias favorables con el uso de una vacuna inactivada mediante calor del VVZ en pacientes sometidos a TPH (74).

- **Inmunización pasiva:** consiste en la inmunización tras la primoinfección. La inmunización no previene de la reactivación viral, puesto que, como hemos explicado, el virus permanece acantonado en diferentes tipos celulares una vez que ha utilizado el sistema replicador del huésped.

(l) CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DE LOS EXANTEMAS

VIRALES

Excluimos de esta explicación a las manifestaciones histológicas típicas de primoinfecciones o reactivaciones virales cuya expresión clínica y correlación clínico-histológica no plantea, en general, dudas diagnósticas, como las infecciones por herpes simple 1 y 2 y el VVZ. Así mismo, excluimos el sarcoma de Kaposi clásico inducido por HHV-8, que no es objeto de este estudio.

Nos centramos en las manifestaciones histológicas (75) de los exantemas virales, clínicamente indistinguibles de exantemas de otro origen.

(I) VEB

La histología del exantema que produce este virus tiene rasgos inespecíficos. Fundamentalmente se manifiesta con un infiltrado inflamatorio perivascular leve.

(II) CMV

EL infiltrado inflamatorio producido por este virus también es inespecífico. Como rasgo característico podemos hallar células endoteliales agrandadas en las paredes de los pequeños vasos. En el interior de los núcleos de estas células podemos hallar inclusiones eosinofílicas rodeadas por un halo claro o formaciones citomegálicas.

(III) HHV-6 y 7

En las biopsias de estos exantemas virales hallamos espongirosis y exocitosis de linfocitos, edema en la dermis papilar e infiltrado de células mononucleares perivascular superficial.

3. EICH Y HERPES VIRUS

La implicación de la infección viral en el desarrollo de la EICHa es una controversia tanto en la clínica como en la literatura, que continúa estando de actualidad(67).

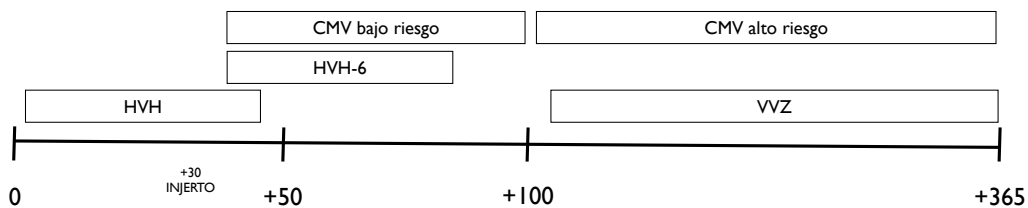


Figura 3: Evolución de las infecciones virales en el año postrasplante.

Según el estado inmunológico del paciente debido a los tratamientos pretrasplante y a la inmunosupresión postrasplante(76), la aparición de la reactivación de las infecciones se prevé en diferentes etapas del trasplante(77), (41), como muestra la figura 3.

La mayoría de los estudios realizados para confirmar la hipótesis de la implicación de los herpesvirus en la etiopatogenia de la EICH se basan en estudios serológicos y de detección viral en sangre(78). Algunos autores, sugieren que estos virus deben estudiarse en los órganos diana, como la piel(62).

La positividad serológica frente a tres o más herpesvirus se ha asociado de manera estadísticamente significativa al desarrollo de EICHa(79).

Algunos autores sugieren que el mecanismo por el cual los herpesvirus desencadenan la EICH es actuando como antígenos menores de histocompatibilidad e iniciando por tanto la cascada inflamatoria que desencadena la enfermedad (43), aunque esta teoría etiopatogénica no está confirmada. Los virus que más frecuentemente se han asociado con esta teoría son: HVH-I, CMV, VEB, VVZ y HVH-6(62,80).

La infección viral no sólo produce morbimortalidad por sí misma, sino que también induce inmunosupresión, potencia la EICH y retrasa la recuperación de la nueva función inmunológica tras el trasplante (43).

Los herpesvirus se han involucrado en la precipitación de otras enfermedades cutáneas (72, 81), que quizá podamos comprender cuando desentrañemos la bidireccionalidad fisiopatológica de la EICH y los herpesvirus humanos.

4. EICH Y FÁRMACOS

La relación entre manifestaciones cutáneas, infecciones y fármacos se ha descrito en la literatura desde hace años(82).

Los pacientes sometidos a TPH ingieren a diario gran cantidad de fármacos, lo cual aumenta el riesgo de desarrollar reacciones cutáneas adversas a

medicamentos.

Tras la introducción de la profilaxis antivírica, la incidencia de reactivaciones de infecciones herpéticas en pacientes sometidos a TPH se redujo significativamente (83), (84), (85). Sin embargo, hay múltiples publicaciones que relacionan la reactivación viral con el desarrollo de la EICH; otras apoyan la relación entre reacciones adversas a medicamentos y reactivación de herpes virus (86) .

Se ha descrito en la literatura una triple relación entre la EICHa, la reactivación de herpes virus y las reacciones cutáneas adversas a medicamentos(2), (87), (88), (89). Además hay que tener en cuenta la toxicidad producida por los fármacos, efecto colateral de los mismos, cuyas manifestaciones clínicas pueden ser indistinguibles de las anteriores (27), (90) .

Clínicamente, no es sencillo diferenciar estas tres entidades, aunque presentan diferentes matices(91). La afectación facial y de palmas y plantas se ha relacionado más con EICHa cutánea que con reacciones cutáneas adversas a medicamentos(91). Como no disponemos de datos clínicos específicos de ellas, debemos apoyarnos en otras técnicas como la histología o las manifestaciones de EICHa en otro órgano diana para confirmar nuestro juicio diagnóstico.

Clásicamente, en la histología de las erupciones cutáneas adversas a medicamentos, se identifican eosinófilos que inducen a este diagnóstico(87). La presencia de estas células en una biopsia, minimizaba las posibilidades diagnósticas de EICH, puesto que, no es frecuente hallarlas en estas biopsias. Sin embargo, existen publicaciones(92), que desdibujan esta diferenciación, dificultando el diagnóstico definitivo (93), (94). La valoración cuantitativa de estas células en las biopsias cutáneas no ha sido evaluada satisfactoriamente como un método útil para diferenciar ambas entida-

des(94).

De igual modo, las técnicas serológicas de las que disponemos de manera rutinaria, tampoco permiten cuantificar si estamos ante una reactivación viral, y en la mayoría de los centros no disponemos de serologías para los virus que más se han implicado en esta triple relación, como el HHV-6.

Se ha sugerido una compleja interacción cuyos mecanismos no son bien conocidos hoy en día, entre la infección o reactivación viral, con las erupciones medicamentosas, intuyendo una mayor agresividad de estas últimas cuando concurren los dos procesos(89). Tanto las erupciones medicamentosas, como las infecciones virales y la EICH comparten rasgos clínicos e histológicos que, en la práctica clínica habitual, nos dificulta un diagnóstico precoz y tratamiento específico.

Los fármacos antivirales prescritos como profilaxis en los pacientes sometidos a TPH no se han sido drogas implicadas en la precipitación de la EICH. Actualmente, se sigue investigando en nuevas líneas terapéuticas antivirales que mejoren la farmacocinética frente a los herpesvirus más relacionados con la EICHa(50).

III. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Teniendo en cuenta los estudios previamente realizados y las múltiples publicaciones científicas que abogan por una estrecha relación entre la infección o reactivación de herpesvirus humanos y la aparición o empeoramiento de la enfermedad de injerto contra huésped, nos planteamos la posibilidad de objetivar la presencia de estos virus en la piel, principal órgano diana de la enfermedad y de mayor accesibilidad.

La presencia de ADN viral en las biopsias de piel de los pacientes que presentan EICHa cutánea, frente a la inexistencia del mismo en los que no presentan la enfermedad, permitiría correlacionar la infección viral con la EICHa cutánea. La identificación precoz de los herpesvirus humanos y como elemento de causalidad proporcionaría una herramienta útil en el diagnóstico tanto de la infección viral como de la EICH y precipitaría cambios en la conducta a seguir en cuanto al tratamiento, tanto profiláctico como activo de los pacientes.

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las dos causas más frecuentes de mortalidad tras el TPH son: la EICH y las infecciones virales⁽⁴⁴⁾. En particular, las infecciones por herpesvirus, han demostrado ser las que producen mayor tasa de morbimortalidad en estos pacientes⁽⁴⁴⁾. Se estima que la causa de mortalidad global en pacientes sometidos a TPH en el 80-85% de los casos es debida a EICH, infección viral o la combinación de ambas⁽⁴⁴⁾.

Incluso con estudio histopatológico de la erupción cutánea en un paciente sometido a TPH, es difícil de diferenciar si es una EICH, reacción cutánea adversa a medicamentos, consecuencias de los tratamientos de quimio y radioterapia o debido a complicación infecciosa. (11), (22), (23), (90),(95).

Puesto que la EICH es una de las causas de mayor morbimortalidad tras el TPH y el EICHa es uno de los factores de riesgo más importante para el desarrollo de EICHc(26), nos planteamos estudiar la contribución de los herpesvirus al desarrollo de esta enfermedad y valorar si era necesario introducir cambios en la estrategia de prevención de la reactivación viral. De modo que, minimizando los factores de riesgo, contribuimos a minimizar la enfermedad(26).

Por todo ello, nos propusimos realizar la detección de ADN viral en muestras de piel de pacientes trasplantados y el estudio retrospectivo de los factores de riesgo que pueden condicionar el inicio y agravamiento de la EICH, así como la relación con la infección viral.

Debido a la dificultad diagnóstica de este proceso, los tratamientos de la enfermedad están pautados en función de la experiencia clínica y protocolos de cada Servicio(96).

IV. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

1. OBJETIVOS GENERALES

- Valorar la presencia de ADN de herpesvirus en la muestra analizada de biopsias de piel de pacientes sometidos a trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH).
- Valorar si la existencia de ADN viral herpético en las biopsias de piel en pacientes receptores de TPH se relaciona con el desarrollado EICH aguda cutánea.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Valorar si existe diferencia entre los tipos de ADN viral hallados en los pacientes que desarrollan EICHa cutánea antes del día +100 y los que no la desarrollan.
- Determinar la relación entre las variables clínicas de nuestro estudio y el desarrollo de EICHa cutánea en pacientes receptores de TPH.
- Evaluar si el tipo de trasplante y las condiciones en que se realiza influyen en el desarrollo de la EICHa cutánea y en la frecuencia con la que hallamos ADN viral en las biopsias de piel de estos pacientes.

- Evaluar la relación entre el estado serológico pretrasplante, tanto del donante como del receptor de PH, con el tipo de ADN viral hallado en las biopsias cutáneas de los pacientes sometidos al TPH.

- Relacionar la tasa de reactivación de CMV en sangre, bien por antigenemia o por PCR, con la aparición de ADN de este virus en las biopsias cutáneas.

- Valorar la relación entre el grado clínico, histológico y global de la EICHa con la presencia o no de ADN de herpesvirus en las biopsias cutáneas de nuestra muestra.

- Validar a la biopsia cutánea en el día +100 postrasplante como una herramienta de detección precoz de EICHa cutánea en pacientes sin expresión clínica de la enfermedad en la piel.

- Objetivar si la presencia de EICHa cutánea antes del día +100 condiciona la aparición de EICHc cutánea al año postrasplante. Valorar la repercusión del grado global y cutáneo de la EICHa, en cuanto a la EICHc cutánea, mortalidad, infeccional, al año postrasplante

- Evaluar la utilidad clínica y predictiva del hallazgo de ADN viral en las biopsias cutáneas de pacientes sometidos a TPH para valorar el establecimiento de un protocolo de determinación de ADN viral herpético mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en biopsias en la rutina diagnóstica.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un análisis descriptivo de las características de la muestra y un estudio de casos y controles retrospectivo, como muestra la figura 4.

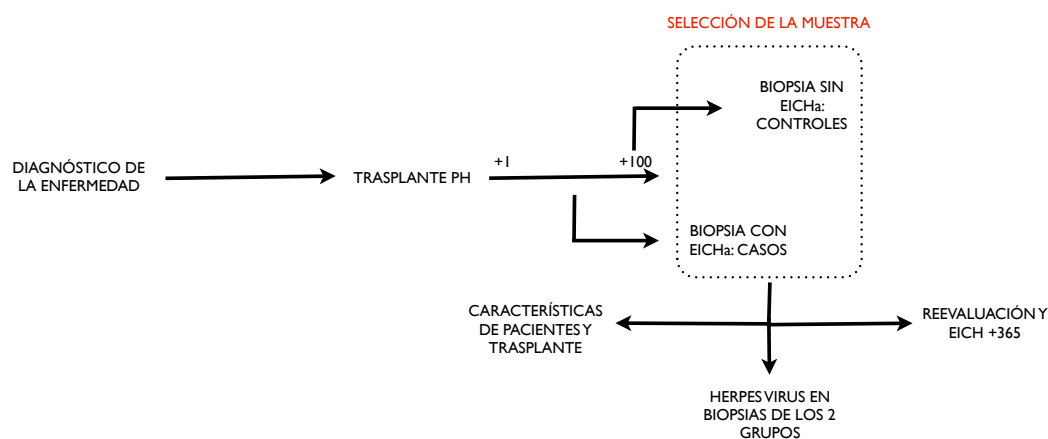


Figura 4: diseño del estudio realizado.

1. SELECCIÓN PACIENTES Y BIOPSIAS

La muestra de nuestro estudio se ha extraído de las biopsias registradas en el archivo de Anatomía Patológica del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Salamanca entre los años 2003 y 2011. Los criterios de búsqueda en la base de datos de dicho archivo fueron “día +100” y “EICH”. La inclusión de los pacientes en el estudio se realizó de forma consecutiva según la fecha de realización de la biopsia y el cumplimiento de los criterios de inclusión, tanto para muestras control como para muestras caso. Se despreciaron aquellos pacientes cuyas biopsias no cumplieran criterios de inclusión.

Se define como *control* a aquellos pacientes con biopsias de piel sana realizadas en el día +100 que no hayan tenido previamente ni manifestaciones

cutáneas ni biopsia realizada con diagnóstico de EICH aguda cutánea. Se considera pacientes control a aquellos con EICH aguda no cutánea que haya aparecido antes del día +100, con biopsia cutánea de screening en el día +100 negativa para EICH aguda cutánea.

Se define como *caso* a aquellos pacientes sin manifestaciones cutáneas, cuya biopsia de screening en el día +100 sea compatible con EICH aguda y a los pacientes con manifestaciones cutáneas previas al día +100 con biopsia cutánea compatible con EICH aguda realizada en el momento de las manifestaciones clínicas.

Se va a considerar como elemento de análisis cada biopsia realizada.

Las biopsias realizadas en el día +100 postransplante se realizaban de manera rutinaria en nuestro hospital, ya que estaban incluidas en la evaluación de los pacientes sometidos a TPH, según el protocolo normalizado de trabajo (PNT) del Servicio de Hematología.

2. ESTUDIO MOLECULAR

El estudio de las biopsias de piel se realizó mediante el kit CLART® ENT-HERPEX, para la detección y tipado de herpes y enterovirus humanos mediante identificación genómica para diagnóstico *in vitro*, marca registrada de GENOMICA. Este kit está basado en la amplificación de fragmentos específicos del genoma vírico mediante PCR múltiple y su posterior hibridación con sondas de captura en arrays, específicas para cada microorganismo (97).

El kit de estudio incluía todos los tipos de la familia herpesvirus que infectan exclusivamente al hombre y enterovirus:

- HVH-1 (herpesvirus tipo 1)
- HVH-2 (herpesvirus tipo 2)
- VZV (virus varicela-zóster ó herpesvirus tipo 3)
- EBV (virus de Epstein Bar ó herpesvirus tipo 4)
- CMV (citomegalovirus ó herpesvirus tipo 5)
- HVH-6 (Herpesvirus tipo 6)
- HVH-7 (Herpesvirus tipo 7)
- HVH-8 (Herpesvirus tipo 8)
- Enterovirus (poliovirus, coxsackievirus, echovirus)

Las biopsias de piel estaban conservadas en bloque de parafina, ya que previamente se había realizado estudio histopatológico habitual de las mismas. De los bloques de parafina, se obtuvieron muestras de piel, que fueron sometidas al procesamiento descrito según el fabricante del kit CLART® ENT-HERPEX(97).

(a) PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA PCR.

Extrajimos nuestras muestras de los bloques de parafina. Para ello, es necesario realizar de cada bloque de parafina dos cortes de 5 micras. Estas láminas se introducen en un tubo eppendorf al que se le añade la solución de digestión junto con solución de dilución y proteinasa K. Una vez realizada la digestión, tenemos el ADN extraído de la muestra.

Este ADN se amplifica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posteriormente se desnaturaliza para separar sus cadenas y poder ser marcadas con biotina. Este producto marcado se deposita en un fondo de un pocillo independiente (AT), cuando se va a procesar una sola muestra

(figura 5) o bien en el fondo de los pocillos de las placas (clart strip) (figura 6). De este modo fueron procesadas nuestras muestras.



Figura 5: AT (array tube): tubo de procesamiento de una muestra.

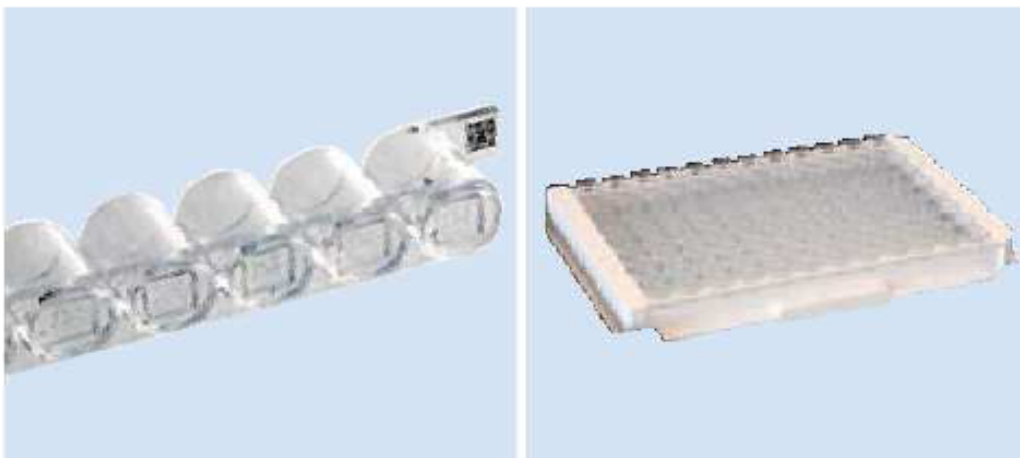


Figura 6: CS (clart strip): tira de ocho pocillos. Plataforma de 12 tiras de 8 pocillos.

En el fondo de cada pocillo hay una placa con sondas de hibridación. Sobre

este fondo se depositan las cadenas de ADN amplificadas y marcadas con biotina para que se produzca la hibridación con el sustrato de las placas (figura 7). Los conjugados de esta unión precipitan y pueden identificarse mediante la lectura automática en la plataforma Clart (figura 8).

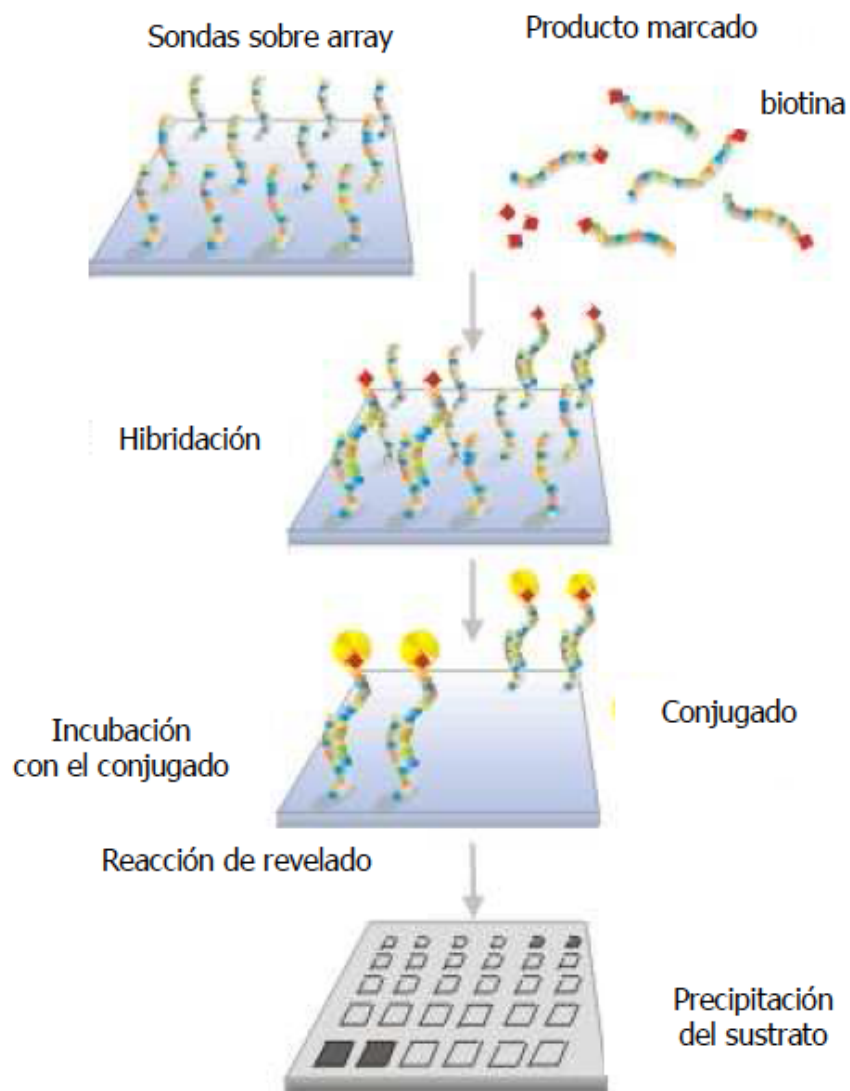


Figura 7: Esquema de la hibridación y precipitación del producto conjugado.



Figura 8: CAR (clinical array reader): lector de las placas con los pocillos.

Los resultados que se obtienen tras la lectura automática de los precipitados de las placas deben contener las marcas de alineamiento, que delimitan el margen en que se produce la hibridación, y los controles de amplificación, que indican que la hibridación se ha producido con éxito (figura 9). Si no hay lectura del virus, se considera un resultado negativo.

CS

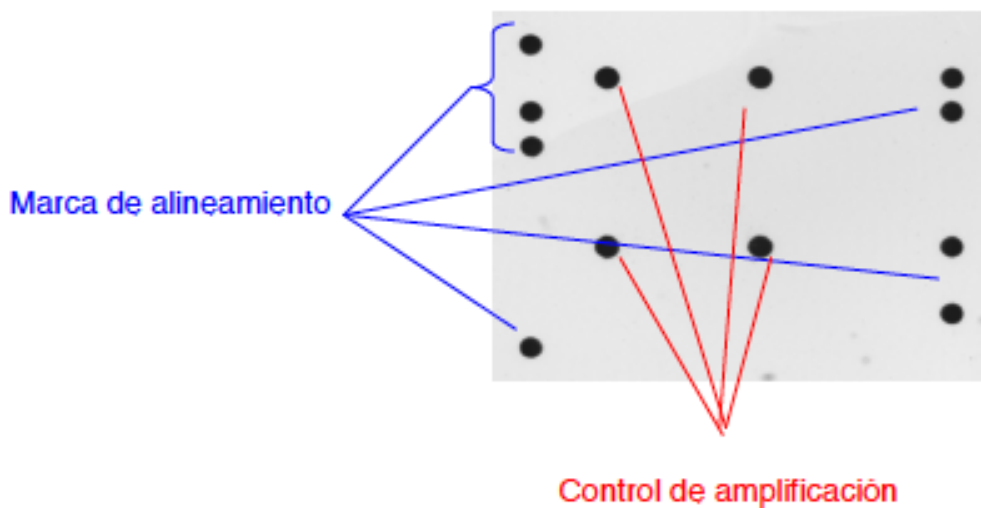


Figura 9: Lectura de la placa que incluye las marcas de alineamiento y el control de amplificación.

La figura 10 muestra la lectura habitual de la placa con resultado positivo de la hibridación viral.

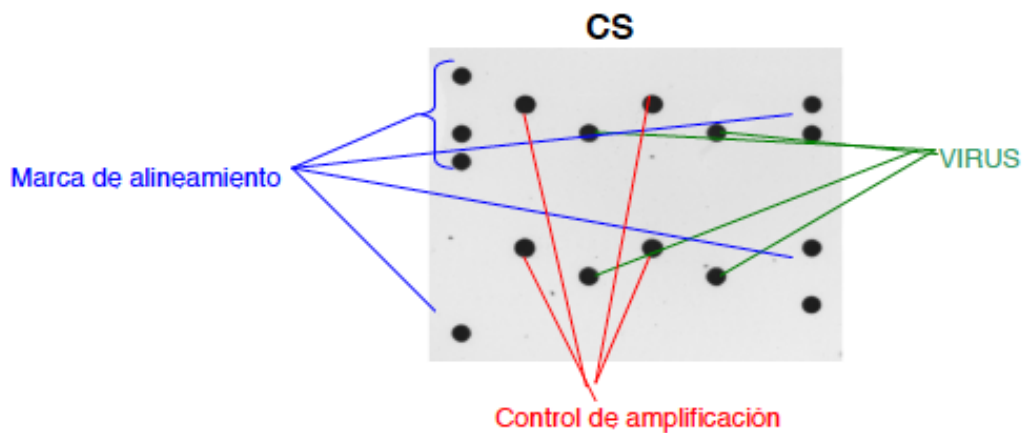


Figura 10: En esta lectura de la placa se aprecian las marcas de alineamiento, los controles de amplificación y la hibridación viral.

Cuando no se aprecian las marcas de los controles de amplificación, como en la figura 11, se considera que la hibridación viral ha competido positivamente con los controles, debido a la alta tasa de replicación viral y la afección por las sondas de hibridación. Se considera un resultado verdaderamente positivo.

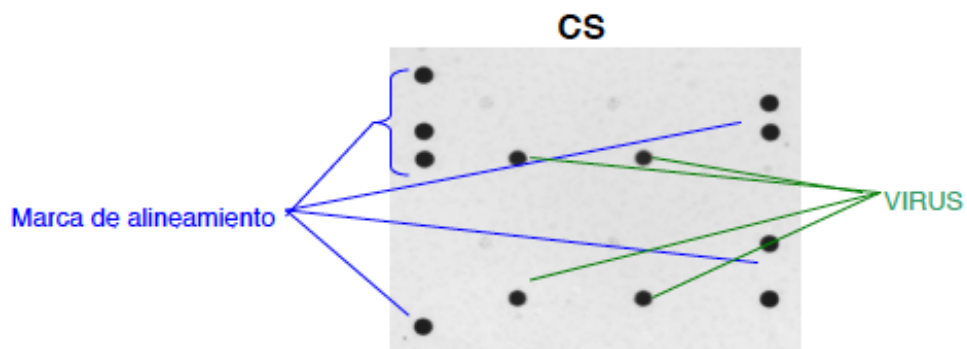


Figura 11: Lectura de la placa en la que se aprecian las marcas de alineamiento y la hibridación viral. No se aprecian los controles.

Si la lectura de la placa sólo muestra las marcas de alineamiento, consideramos que la técnica no ha amplificado correctamente y es un resultado no útil (figura 12).

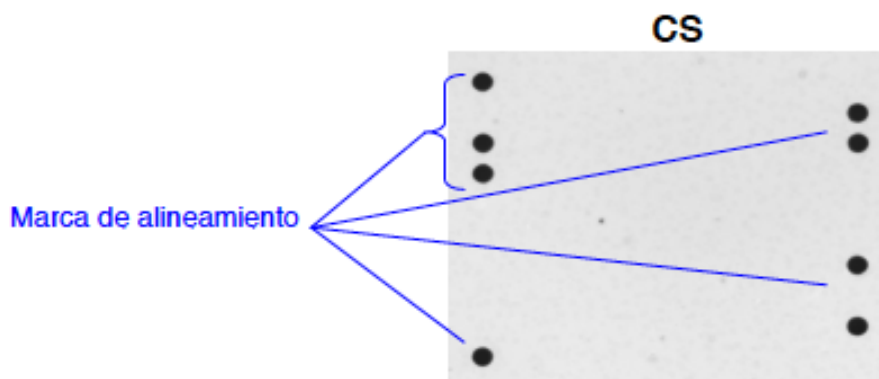


Figura 12: Lectura de la placa no útil, ya que solo muestra las marcas de alineamiento.

3. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron almacenados en la base de datos SPSS 15.0.

Las variables incluidas en nuestro estudio son las siguientes:

- **Variables de filiación:** número de historia clínica general del hospital y número de historia del Servicio de Hematología.
- **Variables clínicas:** edad, género, enfermedad de base, año de diagnóstico de la enfermedad de base, año de realización del trasplante, pacientes con EICHa cutánea (casos) y pacientes sin EICHa cutánea (controles), enfermedad de base, estadio de la enfermedad de base en el momento del trasplante
- **Variables del trasplante:** tipo de trasplante realizado, acondicionamiento recibido previamente al trasplante, si los pacientes recibieron radioterapia corporal o no como parte del acondicionamiento, fuente de progenitores he-

matopoyéticos, HLA idéntico o mismatch, género del donante, disparidad entre el género del donante y del receptor, tratamiento profiláctico frente a las reactivaciones virales, tratamiento profiláctico frente a la enfermedad de injerto contra huésped, grado de toxicidad global en el momento del alta postrasplante.

- **Variables del estado serológico del donante y del receptor:** del protocolo de estudio pretrasplante de cada paciente incluimos en nuestro estudio las siguientes serologías: IgG e IgM frente a herpesvirus simple tipo 1, virus varicela-zóster, virus de Epstein-Barr y citomegalovirus. Para el virus de Epstein-Barr también se recogió el estado del antígeno nuclear (EBNA). En el periodo postrasplante se monitorizó la reactivación de CMV en el receptor del TPH y en caso de positivización, el tipo de tratamiento instaurado.

- **Variables histológicas:** número de biopsia, grado de EICHa histológico, resultado de herpesvirus obtenido de la reacción en cadena de la polimera,

- **Variables de la enfermedad de injerto contra huésped aguda:** día postrasplante de la aparición de la manifestación de la enfermedad, tipo de manifestación según el órgano diana (fiebre, exantema, síntomas abdominales, síntomas neurológicos), EICHa confirmada según el órgano diana (EICHa cutánea, EICHa digestiva, EICHa hepática, EICHa mucosa), grado clínico de la EICHa cutánea, grado histológico de la EICHa cutánea, grado de afectación global por la EICHa.

- Variables de reevaluación del paciente en el día +365 postrasplante: supervivencia, causa del éxitus y si el éxitus había sido infeccioso (bacteriano, fúngico o vírico), presencia de EICHcutánea y si era de nueva aparición o progresión de la EICHa cutánea registrada previamente, manifestación de infección viral.

Se realizó un análisis descriptivo de todas las variables analizadas: a) variables cualitativas: números absolutos y porcentajes con su intervalo de confianza al 95%; b) variables cuantitativas: media y su intervalo de confianza al 95%. Para determinar si las diferencias observadas entre variables fueron estadísticamente significativas utilizamos las siguientes pruebas de contraste de hipótesis: a) Variables cualitativas: prueba chi-cuadrado o, en su caso, el test exacto de Fisher; b) Variables cuantitativas: prueba t de comparación de medias y análisis de la varianza (ANOVA) o, en su caso, pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis.

El nivel de significación estadística considerado en todos los contrastes de hipótesis fue $p < 0,05$.

VI. RESULTADOS

Hay que considerar que cada biopsia realizada es asumida como un elemento de análisis.

El análisis de las variables incluidas en nuestro estudio arrojaron los siguientes resultados:

1. VARIABLES CLÍNICAS

(a) Género

De las biopsias analizadas el 66% pertenecen a hombres y el 34% a mujeres, con una frecuencia aproximada de 1:2. En la tabla 5, se refleja el porcentaje de casos y de controles referidos al género, sin encontrar diferencias significativas entre ellos.

(b) Edad

El rango de edad es muy amplio y en nuestro estudio varía desde los 2 a los 69 años. En la figura 13 observamos el porcentaje de pacientes de cada rango de edad, agrupado en décadas. Puesto que la muestra corresponde a 100, el porcentaje y el número absoluto coinciden.

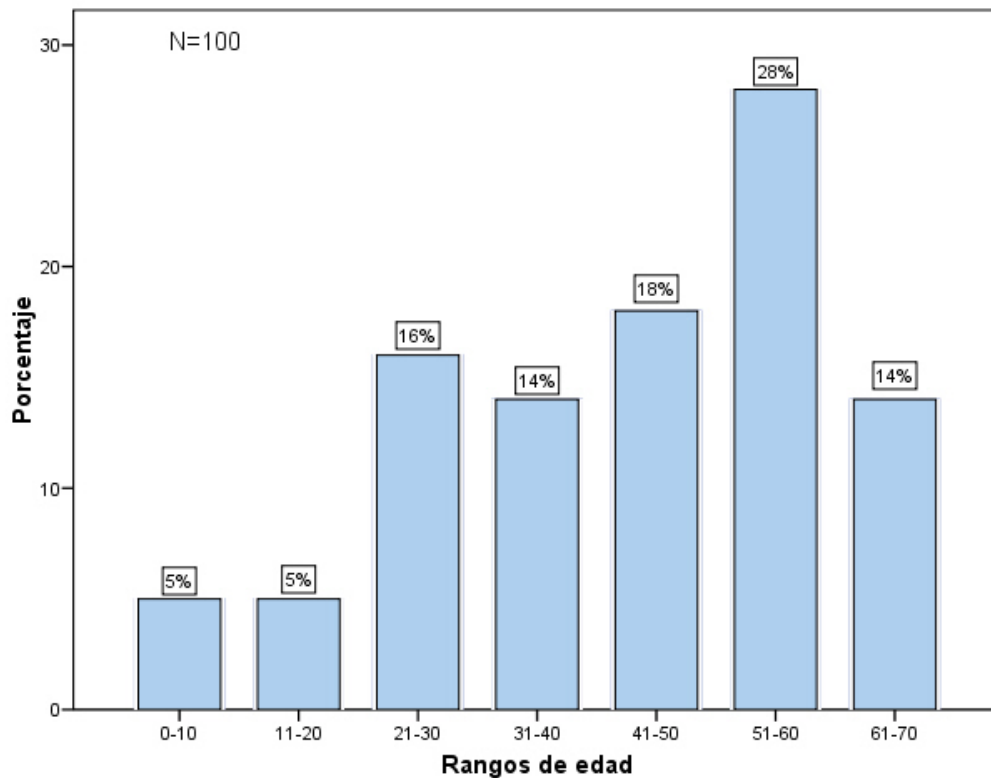


Figura 13: Distribución de la edad de la muestra, según rangos.

(c) Año de diagnóstico, de trasplante y diferencia entre ellos

El año de diagnóstico de la enfermedad abarca desde 1991 a 2011.

Los años de la realización del trasplante abarcan desde 2003 a 2011 (9 años). Aunque nuestro estudio se centra básicamente en los trasplantes realizados entre los años 2003 a 2007, según se aprecia en las figuras 14 y 15..

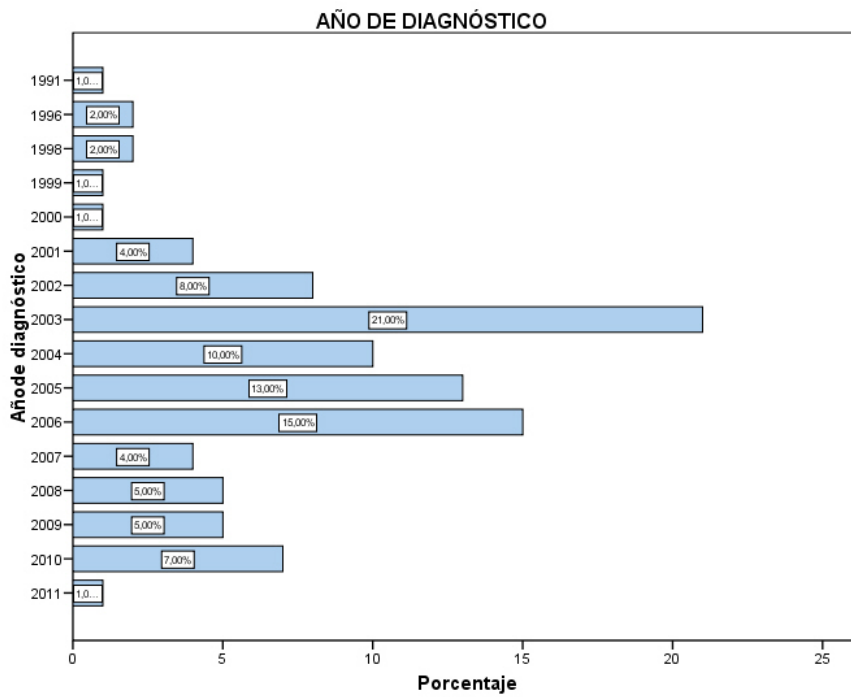


Figura 14: Distribución de la muestra según el año de diagnóstico de la enfermedad de base.

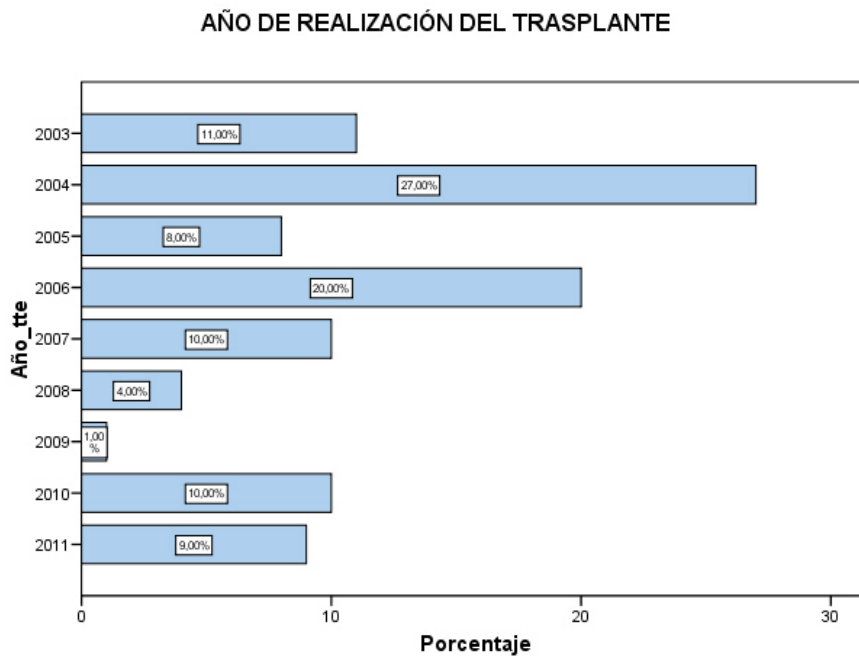


Figura 15: Distribución de la muestra según el año de realización del trasplante.

La tabla 4 muestra la media de años entre el diagnóstico de la enfermedad de base y el trasplante, en global y desglosado por enfermedad de base, para nuestra muestra .

La supervivencia de las enfermedades de base desde el momento del diagnóstico al del trasplante es la que queda reflejada en la tabla 1; las diferencias que se aprecian son estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para el mieloma múltiple y la leucemia linfática crónica, de acuerdo a los que ocurre en la práctica clínica diaria.

TIEMPO MEDIO AL TRASPLANTE		
	AÑOS	IC (95%)
LEUCEMIAS AGUDAS	1,16	0,74-1,57
L.A MIELOIDE	1,05	0,58-1,52
L.A LINFOIDE	1,55	0,53-2,56
LINFOMAS	1,93	0,72-4,58
LNH	1,92	1,2-5,05
LH	2	2
MIELOMA MÚLTIPLE	3	1,12-4,88
SDME. MIELODISPL	0,84	0,51-1,17
SDME. LP (LLC)	5,67	1,38-9,95
OTRAS	1,67	0,23-3,10
TOTAL	1,61	1,08-2,14

Tabla 4: Tiempo medio desde el año de diagnóstico al año de realización del trasplante, según la enfermedad de base.

(d) Grupo de estudio: casos y controles

De las biopsias analizadas, 45 corresponden a casos y 55 controles.

(e) Enfermedad de base

Denominamos enfermedad de base a aquella que precisa realizar un TPH para su curación. Nuestras biopsias pertenecen a pacientes que presentaban:

- 51 leucemias agudas (LA); de ellas, 40 eran LA mieloides y 11 eran LA linfoides.
- 15 linfomas (L); de ellos, 13 eran linfomas no Hodgkin (LNH) y 2 pertenecían a pacientes con linfoma de Hodgkin (LH).
- 6 pertenecían a pacientes con mieloma múltiple (MM)
- 19 pertenecían a pacientes con síndromes mielodisplásicos.
- 6 muestras pertenecían a pacientes con síndrome linfoproliferativo, todas ellas eran leucemias linfáticas crónicas.

No se encontraron pacientes con leucemias prolinfocíticas entre los incluidos en este estudio.

De los 3 pacientes que no cumplen los criterios de inclusión en las características anteriores encontramos:

- Un paciente con aplasia medular grave.
- Un paciente con síndrome de Hurler (mucopolisacaridosis), que está contemplado 2 veces, puesto que se le realizaron varias biopsias y están incluidas en nuestro estudio 2 de ellas.

En la tabla 2, la enfermedad de base está dividida en casos y controles. Destaca que todos los linfomas y mielomas pertenecen al grupo de biopsias control y prácticamente todos los síndromes mielodisplásicos corresponden al grupo de casos, es decir, los que desarrollan EICH antes o en el día +100

postrasplante. Las LA se dividen casi al 50% entre casos y controles.

(f) Estadio de la enfermedad en el momento del trasplante

En el momento del trasplante, 64 pacientes se encontraban en respuesta completa, 1 en fase de recaída y 18 en progresión de la enfermedad de base.

El apartado *otros* engloba a los estadios de respuesta parcial, muy buena respuesta parcial, aplasia sin blastos, respuesta objetiva y estadios del mieloma múltiple no incluidos en los apartados anteriores. Así mismo, incluimos en este apartado las biopsias pertenecientes a un paciente con síndrome de Hurler, cuyos estadios no corresponden con los de las enfermedades hematológicas. En este apartado encontramos 15 pacientes (17%, del total).

VARIABLES CLÍNICAS			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
GÉNERO			
HOMBRES	36 (65,5)	30 (66,7)	66 (66)
MUJERES	19 (34,5)	15 (33,3)	34 (34)
ENF. DE BASE (E.B)			
LEUCEMIAS AGUDAS	29 (52,7)	22 (48,9)	51 (51)
L.A MIELOIDE	26 (47,27)	14 (31,1)	40 (40)
L.A LINFOIDE	3 (5,45)	8 (17,8)	11 (11)
LINFOMAS	15 (27,27)	0	15 (15)
LNH	13(23,63)	0	13 (13)
LH	2 (3,63)	0	2 (2)
MIELOMA MÚLTIPLE	6 (10,9)	0	6 (6)

SDME. MIELODISPL	2 (3,63)	17 (37,7)	19 (19)
SDME. LP (LLC)	3 (5,45)	3(6,67)	6 (6)
OTRAS	0	3 (6,67)	3 (3)
ESTADIO DE LA E.B			
REMISIÓN COMPLETA	40 (72,73)	24 (55,81)	64 (64)
RECAIDA	0	1 (2,32)	1 (1)
PROGRESIÓN	9 (16,36)	9 (20,93)	18 (18)
OTRAS	6 (10,9)	11(22,4)	17 (17)

Tabla 5: variables clínicas

2. VARIABLES DEL TRASPLANTE

(a) Tipo de trasplante

Todos los trasplantes realizados son alogénicos; 69 de ellos emparentados y 31 no emparentados.

En nuestra serie no obtuvimos datos de pacientes que hubieran recibido autotrasplante.

(b) Fuente de progenitores hematopoyéticos

En nuestro estudio, incluimos cinco posibles fuentes de progenitores hematopoyéticos (PH), bien como fuente de progenitores única o combinadas.

-Progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP):80. En el caso de los pacientes que no presentaron EICHa cutánea, esta fuente supone el 90,9%.

- Progenitores hematopoyéticos de médula ósea (PHMO): 12; 9 de ellos presentaron EICHa cutánea antes del día +100 postrasplante.

- Progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical (PHCU): 2

- Combinación de PHSP y PHMO: 4

- Combinación de PHSP y PHCU: 2

Todos los pacientes en cuyo trasplante había PH procedentes de CU, bien en monoterapia o en combinación, desarrollaron EICHa cutánea antes del día+100.

(c) HLA mismatch

La compatibilidad HLA fue idéntica en el 89,7% de las muestras, mientras que el 10,2%, presentaba discordancia en los antígenos de histocompatibilidad

No disponemos de datos en 2 de las muestras analizadas, porque el trasplante se realizó en un centro diferente al nuestro, aunque el seguimiento postrasplante se realizó en nuestro centro, de ahí que quede incluido en nuestro estudio.

(d) Género del donante

En 58 muestras, el donante fue un hombre y en 37 fue una mujer.

En la tabla 6 podemos observar la distribución según presentaran EICHa cutánea o no antes del día +100 postrasplante. Destaca que en el 72% de los controles el donante era un hombre, mientras que en el 52% de los casos se trataba de una mujer.

Carecemos de este dato en 5 muestras: los donantes no estaban emparentados, sino que procedían del banco de donantes.

(e) Género receptor/donante (R/D)

En este apartado reflejamos las cuatro posibles combinaciones de R/D. En la tabla 6 podemos observar números absolutos y porcentajes, según correspondan a muestras histológicas consideradas como controles o como casos.

- La combinación Hombre:Hombre (HH):37; de ellos, 25 corresponden a controles.

- Hombre: Mujer (HM): 25; de ellos 16, corresponden a casos.

- Mujer:Mujer (MM): 12; de ellos el 50% son casos y el otro 50% son controles.
- Mujer:Hombre (MH): 21; de ellos 13 corresponden a controles.

Observamos cierta tendencia a padecer EICHa cutánea cuando el donante es una mujer, sin ser estos datos estadísticamente significativos en nuestro estudio.

(f) Tipo de acondicionamiento

El régimen de acondicionamiento previo al trasplante fue ablativo (estándar) en el 41% de los pacientes, y de intensidad reducida (no ablativo) en el 59% restante.

La relación de los pacientes que presentaron o no EICHa cutánea antes del día +100 postrasplante con el régimen de acondicionamiento recibido no presenta diferencias estadísticamente significativas en nuestro estudio.

(g) Radioterapia corporal total (RCT)

La RCT forma parte del régimen de tratamiento estándar. Según el PNT del Servicio de Hematología en la versión del año 2000, las indicaciones de RCT son:

- Leucemia aguda linfoblástica, sometidos a trasplante alogénico y autólogo.
- Mieloma múltiple, sometido a trasplante alogénico y autólogo.
- Linfomas no Hodgkin sometidos a trasplante alogénico (todos) o trasplante autólogo si se considera que la RCT va a ser más eficaz que el régimen habitual.
- Todos los trasplantes no emparentados.

El porcentaje de pacientes de nuestro estudio que la recibieron fue del 18%; el 82% de ellos no fueron sometidos a este régimen de acondicionamiento.

De estos 18 pacientes que recibieron RCT en el acondicionamiento, 17 eran leucemias agudas (10 mieloides y 7 linfoides) y 1 pertenecía a un paciente con linfoma no Hodgkin.

(h) Profilaxis de la EICH

La profilaxis de la EICH se realizó según los esquemas de tratamiento del protocolo normalizado de la unidad de trasplante con las siguientes combinaciones de agentes inmunosupresores:

- Ciclosporina y metotrexato: 63
- Ciclosporina, metotrexato y ATG (antitimoglobulina/ globulina antitimocítica): 7
- Tacrolimus y rapamicina: 10
- Otro regímenes de tratamiento: 20

De los veinte pacientes que recibieron regímenes de tratamiento profiláctico de la EICHa diferentes a los descritos, 16 recibieron ciclosporina en monoterapia (6 pacientes) o en combinación con otras drogas que describo a continuación:

- Dos pacientes recibieron ciclosporina en combinación con metotrexato y tacrolimus.
- Cuatro pacientes recibieron combinación de ciclosporina y micofenolato. A tres de los anteriores, además, se le añadió beclometasona en el régimen de profilaxis.
- Tres pacientes recibieron ciclosporina en combinación con prednisona.
- Un paciente recibió ciclosporina en combinación con Campath.

De los cuatro pacientes que no recibieron ciclosporina como profilaxis, los regímenes de acondicionamiento se realizaron con la combinación de metotrexato y tacrolimus. Además, uno de ellos también recibió ATG.

(i) Profilaxis antivírica

Prácticamente todos los pacientes (95%) reciben profilaxis universal con aciclovir. Sólo excepcionalmente reciben valaciclovir (3%) o foscarnet (2%).

Ninguno de los pacientes recibió ganciclovir como profilaxis.

(j) Toxicidad global en el momento del alta hospitalaria postrasplante.

La toxicidad global en el momento del alta hospitalaria se midió mediante el ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group). Este parámetro recoge datos de toxicidad oncológica. Se divide en 5 apartados (0,1,2,3,4), según la sintomatología de los pacientes (98). En nuestro estudio, analizamos este parámetro en el momento del alta hospitalaria postrasplante.

En la tabla 4, podemos apreciar los resultados, según pertenezcan a casos o controles. Globalmente, el 95% de los pacientes presentaba al alta buen o muy buen estado general, con ECOG de 0 o de 1.

Los pacientes no presentaron ECOG 3 ni 4 en el momento del alta, de acuerdo a la práctica clínica, ya que esta clasificación indica mal estado general o alta toxicidad.

VARIABLES DEL TRASPLANTE			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
TIPO DE TTE			
ALOGÉNICO NO EMPARENTADO	11 (20%)	20 (44,44)	31 (31)

ALOGÉNICO EMPARENTADO	44 (80%)	25 (55,55)	69 (69)
FUENTE DE PROGENITORES			
PHSP	50 (90,9)	30 (66,6)	80 (80)
PHMO	3 (5,45)	9 (20)	12 (12)
CU	0	2 (4,44)	2 (2)
PH SP+MO	2 (3,64)	2 (4,44)	4 (4)
PHSP+CU	0	2 (4,44)	2 (2)
HLA MISMATCH			
IDÉNTICO	48 (87,27)	40 (93,02)	88 (89,7)
NO IDÉNTICO	7 (12,72)	3 (6,97)	10 (10,2)
GÉNERO DEL DONANTE (D)			
HOMBRE (H)	38 (71,69)	20 (47,61)	58 (61,05)
MUJER (M)	15 (28,30)	22 (52,38)	37 (38,94)
GÉNERO RECEPTOR/DONANTE (R/D)			
HH	25 (47,17)	12 (28,57)	37 (38,94)
HM	9 (16,98)	16 (38,09)	25 (26,31)
MM	6 (11,32)	6 (14,28)	12 (12,63)
MH	13 (24,52)	8 (19,04)	21 (22,10)
TIPO DE ACONDICIONAMIENTO			
INTENSIDAD REDUCIDA	35 (63,63)	24 (53,33)	59 (59)
ESTÁNDAR	20 (36,36)	21 (46,67)	41 (41)
RADIOTERAPIA CORPORAL TOTAL (RCT)			
NO	48 (87,27)	34 (75,52)	82 (82)
SÍ	7 (12,72)	11 (24,44)	18 (18)
PROFILAXIS EICH			
CSPA +MTX	38 (69,09)	25 (55,56)	63 (63)

CSPA +MTX+ATG (CU)	2 (3,63)	5 (11,11)	7 (7)
TACRO+RAPA	3 (5,45)	7(15,55)	10 (10)
OTRO	12 (21,81)	8 (17,78)	20 (20)
PROFILAXIS ANTIVÍRICA			
ACICLOVIR	54 (98,18)	41 (91,11)	95 (95)
FOSCARNET	0	2 (4,44)	2 (2)
VALACICLOVIR	1 (1,82)	2 (4,44)	3 (3)
ECOG AL ALTA			
0	20 (36,36)	13 (30,23)	33 (33,67)
1	32 (58,18)	29 (67,44)	61 (62,24)
2	3 (5,45)	1 (2,32)	4 (4,08)

Tabla 6: variables del trasplante.

3. ESTADO SEROLÓGICO

(a) Pre trasplante del receptor

En el PNT pretrasplante, se incluye el estudio del estado serológico del paciente en relación al VHS, VVZ, VEB, CMV.

(I) VHS:

(1) IgM

La IgM indica infección activa o primoinfección.

En todas nuestras muestras, se descartó esta posibilidad, ya que la IgM no fue positiva en ninguna de las 92 muestras de las que disponemos este dato y análogamente, la IgM fue negativa tanto en casos como en controles (92 muestras en total)

(2) IgG

Los datos indican que el 90% de los pacientes de los que proceden las muestras han tenido contacto con el VHS, sin encontrar diferencias entre los que posteriormente desarrollarán o no EICH a cutánea. Menos del 10% de los pacientes no posee inmunidad frente al VHS.

(II) VVZ:

(1) IgM

Ninguno de los pacientes (98) presentaba infección activa en el momento del trasplante.

(2) IgG

El 85,71 % de las muestras proceden de pacientes que han tenido contacto con el VVZ a lo largo de su vida, sin que aparezcan diferencias entre los que posteriormete desarrollarán EICH aguda cutánea o no. Un 14% de los pacientes no presentan inmunización frente a este tipo viral.

No disponemos de datos de dos muestras, que corresponden a 1 pacientes que fue trasplantado en otro centro.

(III) CMV:

(1) IgM

No se detectaron signos de infección aguda en el momento de la evaluación pretrasplante (IgM+: 0; IgM-: 98).

No disponemos de dos datos, correspondientes a un pacientes cuyo trasplante se realizó fuera de nuestro centro.

(2) IgG

Los datos indican que más del 75% de los pacientes sometidos a este procedimiento presentan datos serológicos de inmunización o contacto con el CMV. (IgG+: 77 (78,57%);IgG-: 21 (21,43))

No disponemos de los datos de 2 biopsias correspondientes al mismo paciente, ya que el trasplante se llevó a cabo en otro centro.

(IV) VEB:

(1) IgM

No se detectaron signos de infección aguda en el momento de la evaluación pretrasplante: (IgM-: 98; IgM+:0)

No disponemos de los datos de 2 biopsias correspondientes al mismo paciente, ya que el trasplante se llevó a cabo en otro centro.

(2) EBNA

EBNA+: 76

EBNA-: 16

No disponemos de datos en ocho muestras: seis de ellas, de nuestro centro, en el que no se determinó este parámetro, y dos biopsias correspondientes al mismo paciente, que fue trasplantado en otro centro.

(3) IgG

Las muestras de nuestro estudio proceden de pacientes que en el 94% de los casos han estado en contacto con el VEB. Respecto a esta positividad no existen diferencias significativas entre los que posteriormente desarrollarán o no la EICH aguda cutánea.

No disponemos de los datos de 2 biopsias correspondientes al mismo paciente, ya que el trasplante fue realizado en otro centro. Ni de uno de los pacientes cuyo trasplante se realizó en nuestro centro en el año 2004.

Tanto IgG como EBNA indican latencia del ciclo viral del VEB, por ello, son pruebas complementarias.

SEROLOGÍAS PRETRASPLANTE RECEPTOR			
	CONTROL (%)	CASO (%)	TOTAL (%)

VHS			
IgM-	51 (100)	41(100)	92 (100)
IgM+	0	0	0
IgG-	6 (11,76)	3 (7,31)	9 (9,78)
IgG+	45 (88,23)	38 (92,68)	83 (90,22)
VVZ			
IgM-	55 (100)	43 (100)	98 (100)
IgM+	0	0	0
IgG-	6 (10,91)	8 (18,60)	14 (14,28)
IgG+	49 (80,09)	35 (81,39)	84 (85,71)
CMV			
IgM-	55 (100)	43 (100)	98 (100)
IgM+	0	0	0
IgG-	14 (25,45)	7 (16,27)	21 (21,43)
IgG+	41 (74,55)	36 (83,7)	77 (78,57)
VEB			
IgM-	55 (100)	43 (100)	98 (100)
IgM +	0	0	0
EBNA -	5 (9,26)	11 (28,94)	16 (17,39)
EBNA +	49 (90,74)	27 (71,05)	76 (82,61)
IgG -	3 (5,45)	3 (6,97)	6 (6,12)
IgG+	52 (94,54)	40 (93,02)	92 (93,87)

Tabla 7: estado serológico pretrasplante de los receptores de TPH.

(b) Pre trasplante del donante

En el protocolo de evaluación previo al TPH de donante no emparentado, no se exige el estudio del estado serológico del donante, por ello, no constan las serologías del total de la muestra analizada.

(I) VHS:

(1) IgM

Ningún paciente presentaba infección activa en el momento de la evaluación previa a la donación de PH.

(2) IgG

El 82,35% de los donantes habían tenido contacto con el virus y presentaban IgG+ (56). Aproximadamente el 18%, no había sufrido primoinfección por este virus. (IgG-:12)

(II) VVZ:

(1) IgM

Ninguno de los donantes presentaba infección activa en el momento de la evaluación previa a la donación. (IgM-:71)

(2) IgG

El 93% de los donantes presentaba inmunidad frente a este virus, frente al 7% que no estaban inmunizados en el momento de la donación.

(III) CMV

(1) IgM

Ninguno de los donantes de los pacientes de los que hemos obtenido nuestras muestras presentaban infección activa en el momento de la donación. (IgM+:0;IgM-:89)

(2) IgG

El 70% de los donantes habían presentado contacto con este virus y por tanto la IgG+ aparece en 69 de nuestras muestras.

Por el contrario, son seronegativos el 30% de los donantes (IgG-:29)

(IV) VEB

(1) IgM

No consta en nuestra muestra ningún donante de PH que presente primoinfección viral en el momento del despistaje serológico pretrasplante.

(2) EBNA

Aproximadamente el 77% de los pacientes presentan antígeno nuclear frente al VEB(EBNA), lo cual indica contacto con el virus, previamente al momento de la donación de PH.

(3) IgG

Mediante IgG, observamos que la inmunidad serológica aumenta hasta casi el 89% y el 11% de los pacientes donantes no habían tenido contacto previo a la donación con este virus.

En nuestra muestra, los resultados de las serologías tanto del receptor del trasplante como del donante de los progenitores hematopoyéticos, que no existen diferencias significativas entre ellos, lo que indica una inmunización homogénea de la población estudiada.

Así mismo, no existen diferencias significativas entre las serologías procedentes de pacientes que presentarán EICH aguda cutánea y los que no antes del día +100 postrasplante.

SEROLOGÍAS PRETRASPLANTE DONANTE			
	CONTROL (%)	CASO (%)	TOTAL (%)
VHS			
IgM-	43 (100)	25 (100)	68 (100)
IgM+	0	0	0
IgG-	8 (18,6)	4 (16)	12 (17,65)
IgG+	35 (81,4)	21 (84)	56 (82,35)
VVZ			
IgM-	45 (100)	26 (100)	71 (100)
IgM+	0	0	0
IgG-	4 (8,89)	1 (3,84)	5 (7,04)
IgG+	41 (91,11)	25 (96,15)	66 (92,96)
CMV			
IgM-	54 (100)	37 (100)	89 (100)
IgM+	0	0	0
IgG-	18 (32,72)	11 (25,58)	29 (29,59)
IgG+	37 (67,27)	32 (74,42)	69 (70,41)
VEB			
IgM-	48 (100)	32(100)	80(100)
IgM+	0	0	0
EBNA-	9 (19,56)	8 (29,63)	17 (23,28)
EBNA+	37 (80,43)	19 (70,37)	56 (76,71)
IgG-	7 (14,58)	2 (6,25)	9 (11,25)
IgG+	41 85,42)	30 (93,75)	71 (88,75)

Tabla 8: estado serológico pretrasplante de los donantes de PH.

(c) Reactivación CMV en el periodo postrasplante del receptor.

Se han estudiado múltiples procedimientos(56) para el estudio de la reactivación de CMV: aislamiento, antigenemia, viremia, hallazgo de DNA mediante PCR (DNAemia). El último es el más utilizado actualmente.

(I) Estudios de CMV solicitados

En nuestra muestra, la reactivación de CMV se estudió en 98 de los pacientes, de las cuales no se halló reactivación en el 67,35% y sí en el 32,65%.

Durante los años en los que se realizaron los trasplantes objeto de nuestra muestra, la reactivación de CMV se monitorizaba bien por antigenemia, bien por PCR o por ambos. Según el PNT se realiza determinación semanal desde el día +10 al +100. A partir de este día y hasta el año postrasplante, la determinación es bisemanal en los pacientes de riesgo:

- los que han recibido ganciclovir en los primeros 100 días postrasplante.
- en tratamiento con corticoides.

Los valores para considerar reactivación de CMV son los siguientes:

(1) - Antigenemia

La antigenemia de CMV detecta el antígeno pp65 (Ag pp65) del CMV en los leucocitos de sangre periférica, sobre todo en los granulocitos. La interpretación de los resultados se realiza de la siguiente manera:

- Negativa: si no se detecta ninguna célula positiva
- Positiva: si se detecta 1 o más células con el Ag pp65 positivo
- Positivo débil: si hay baja antigenemia. Se considera 0,5 células por extensión, considerando 150.000 células en cada extensión.
- Equívoca o si no hay suficiente número de células para valorar la antigenemia. Se considera número insuficiente de células, si hay menos de 200.000 granulocitos en el conteo de sangre periférica.

(2) PCR de CMV en sangre

Esta determinación no se realizaba de rutina en los años en los que nuestros pacientes fueron sometidos a TPH. Actualmente está incluida en la práctica clínica diaria.

Los valores que se consideraban positivos eran los siguientes:

- Antes del día +100: más de 600 copias en 2 determinaciones.
- Después del día +100: más de 1000 copias en 2 determinaciones.

Actualmente, este procedimiento está estandarizado en unidades internacionales (UI), según el kit comercial con el que se realizan las determinaciones.

(II) Tratamiento de la reactivación:

El tratamiento pautado en estos 32 pacientes en los que se detectó reactivación de CMV fue:

ganciclovir: 19; valganciclovir: 9; foscarnet: 4

Se alcanzó aclaramiento de la replicación viral en la reevaluación en todos los casos, por lo que no fue necesario segunda línea de antivírico.

La pauta de tratamiento de la reactivación se realiza mayoritariamente con ganciclovir. Si la reactivación se produce antes del día +100, el tratamiento se mantiene hasta el día +100. Si la reactivación se produce posterior al día +100, el tratamiento se mantendrá durante 2 semanas.

Se considera resistencia al tratamiento, si tras 3 semanas de iniciarlo, la antigenemia continúa elevándose. Se cambiará a segunda línea de tratamiento con Foscarnet y se valorará estudio de sensibilidad y resistencia a los tratamientos del CMV.

EVALUACIÓN DE CMV			
REACTIVACIÓN CMV			
	CONTROL (%)	CASO (%)	TOTAL (%)
NO	39 (70,9)	27 (62,79)	66 (67,35)
SÍ	16 (29,09)	16 (37,21)	32 (32,65)
TRATAMIENTO DE LA REACTIVACIÓN			
GANCICLOVIR	12 (22,64)	7 (16,28)	19 (19,79)
VALGANCICLOVIR	4 (7,55)	5 (11,63)	9 (9,37)
FOSCARNET	0	4 (9,30)	4 (4,17)

Tabla 9: Detección de reactivación de citomegalovirus.

4. EICH AGUDA

(a) Días postrasplante de EICH aguda

Consideramos cualquier manifestación postrasplante susceptible de ser considerada EICHa y calculamos la media de los días en que se han producido estas manifestaciones.

El tiempo medio de aparición de las manifestaciones de EICHa en cualquier órgano es de 43,34 días, con IC al 95% [35,59-51,09].

(b) Días postrasplante de EICHa cutánea

Se considera manifestación postrasplante de EICHa cutánea al exantema cutáneo.

Para definir EICHa consideramos desde el día +1 después de la infusión hasta el día +100.

El tiempo medio en producirse las manifestaciones es de 42,96 días con un IC al 95% [32,96-52,95] (figura 16).

Observamos que el tiempo medio en producirse las manifestaciones de EICHa en cualquier órgano y las manifestaciones cutáneas no varían.

Según puede verse en el gráfico, en el día +100 hay un repunte en la frecuencia de las manifestaciones cutáneas. Esto es debido a que en el día +100 sistemáticamente se realizaba biopsia cutánea de reevaluación de EICH y observamos que en 7 de las muestras (equivalente al 15,6% de las biopsias consideradas como casos) hay EICHa cutáneo, sin evidencia clínica. Por ello, el EICH histológico es un marcador precoz de EICH.

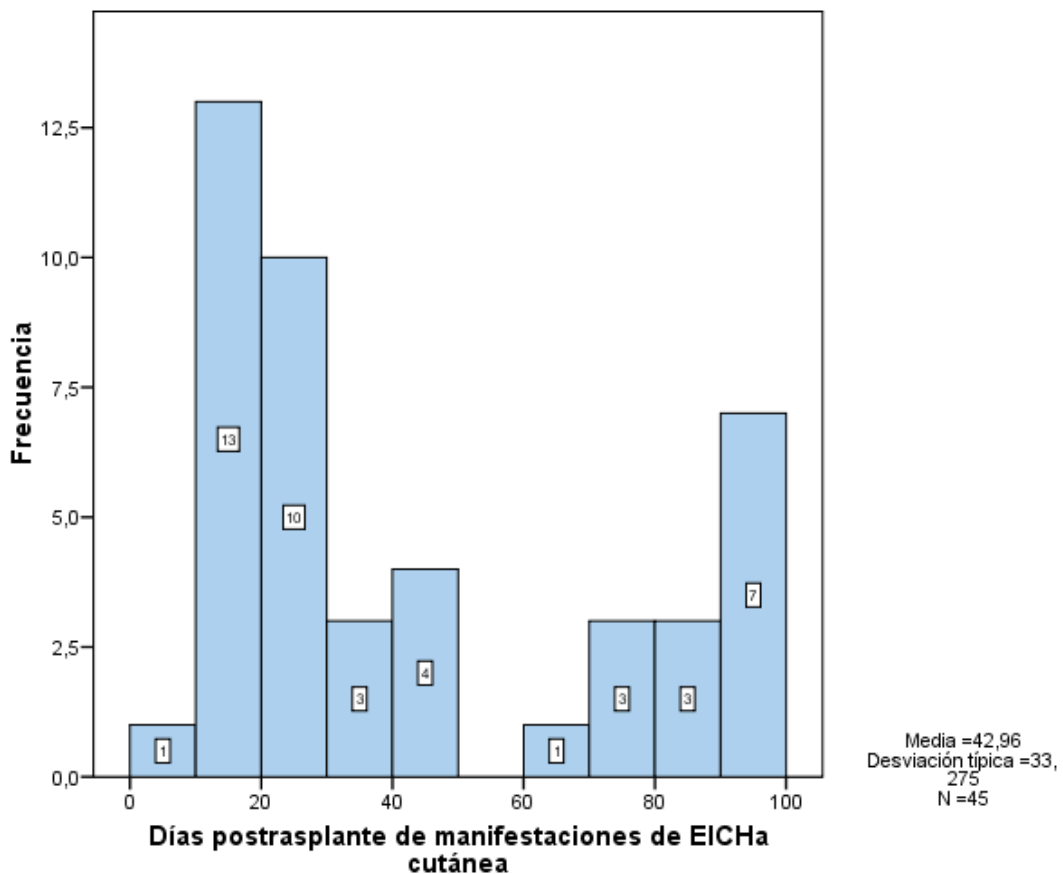


Figura 16: días postrasplante de las manifestaciones de EICH aguda cutánea.

(c) EICH aguda en cualquier órgano

De las 100 muestras estudiadas, 62 (62%), presentaron EICHa en cualquier órgano (digestivo, hepático, cutáneo, neurológico o mucoso) antes del día +100. De ellas, 45 (equivalente al 45% del total de las muestras y al 100% de los casos) presentaron EICHa cutáneo.

Treinta y ocho (38% del total) de las muestras procedían de pacientes que no habían presentado signos ni síntomas de esta enfermedad en ningún órgano.

(d) EICH crónica en cualquier órgano, a partir del +100, hasta el 365

Solo nueve pacientes de los cuales obtuvimos nuestras muestras presentaron EICH en cualquier órgano entre el día +100 y el +365.

El desglose de los pacientes que presentan EICH cutánea en el +365 se encuentra explicado en el apartado (6)Reevaluación en el +365 (tabla 10).

EVOLUCIÓN EICH 0→ +100→ +365			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
EICHa (0-+100)			
NO	38 (69,09))	0	38 (38)
SÍ	17 (30,91)	45 (100)	62 (62)
EIHCC (+100-+365)			
NO	55 (100)	36 (80)	91 (91)
SÍ	0	9 (20)	9 (9)
EICH +365 (CUTÁNEO)			
NO	29 (60,42)	9 (28,12)	38 (47,5)
DE PROGRESIÓN	6 (12,5)	23 (71,87)	29 (36,25)
DE NOVO	13 (27,08)	0	13 (16,25)

Tabla 10: evolución de la EICH aguda cutánea hasta el año postrasplante.

(e) Manifestaciones acompañantes de EICH aguda por órgano diana

Reflejadas en la tabla 11.

(I) Fiebre

De las muestras analizadas, sólo 9 presentaron fiebre en el momento de la biopsia; 91 de las muestras analizadas, no registraron fiebre en el momento de la toma de la muestra.

Debido a que en la práctica clínica diaria estos pacientes presentan fiebre frecuentemente, este dato en nuestro estudio es anormalmente escaso. Probablemente existe un sesgo de selección, ya que esta medida suele estar recogida en la historias clínicas de ingreso y no en las de consulta, que fueron las evaluadas en este estudio.

(II) Exantema cutáneo

De las 100 muestras, 38 presentaron exantema cutáneo y 63 de ellas no. De las 63 que no presentaron exantema cutáneo, 8 (12,7%), sí mostraban de EICHa cutáneo en la biopsia.

(III) Síntomas abdominales

De las 100 muestras analizadas, 62 no presentaron síntomas digestivos, mientras que 38 de ellas referían sintomatología abdominal (dolor abdominal, diarrea...) en el momento de la biopsia. De las muestras que presentaron EICHa, consideradas como casos, observamos que aproximadamente el 50% presenta estos síntomas, mientras que el otro 50% permanece asintomático.

(IV) Síntomas neurológicos

Ninguna de las muestras fue tomada en el momento de presentar síntomas neurológicos (ni cefalea, ni focalidad ni otros síntomas)

SÍNTOMAS DE EICH POR ÓRGANO DIANA			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
EXANTEMA			
NO	55 (100)	8 (17,78)	63 (63)
SÍ	0	37 (82,22)	37 (37)
FIEBRE			
NO	55 (100)	36 (80)	91 (91)
SÍ	0	9 (20)	9 (9)
S. ABDOMINALES			
NO	40 (72,72)	22 (48,89)	62 (62)
SÍ	15 (27,27)	23 (51,11)	38 (38)
S. NEUROLÓGICOS			
NO	55 (100)	45 (100)	100 (100)
SÍ	0	0	0

Tabla 11: manifestaciones de EICHa según el órgano diana afectado.

(f) EICH aguda, desglosada por afectación de órgano diana:

Reflejadas en la tabla 12.

(I) EICH digestiva

Presentaron EICH digestiva 41 de las muestras, mientras que 59 no presentaron síntomas digestivos en el momento de la toma de la biopsia o en los +100 días postrasplante.

(II) EICH hepática

De las 100 muestras, 11 presentaron EICH hepático, mientras que 89 no presentaron síntomas de la enfermedad.

(III) EICH cutánea:

Encontramos 45 muestras con EICH cutánea aguda, coincidente con el número de casos considerados para el estudio de casos y controles.

(IV) EICH mucosa

Sólo 6 de las muestras tomadas, fueron confirmadas como EICH mucoso mediante biopsia, el resto, 94%, no presentaron EICH mucoso en la muestra de la biopsia y/o no presentaron signos ni síntomas de EICH mucoso.

EICH AGUDO POR ÓRGANO DIANA			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
EICHa DIGESTIVO			
NO	40 (72,72)	19 (42,22)	59 (59)
SÍ	15 (27,27)	26 (57,78)	41 (41)
EICHa HEPÁTICO			
NO	53 (96,36)	36 (80)	89 (89)
SÍ	2 (3,63)	9 (20)	11 (11)
EICHa CUTÁNEO			
NO	55 (100)	0	55 (55)
SÍ	0	45 (100)	45 (45)
EICHa MUCOSO			
NO	54 (98,18)	40 (88,89)	94 (94)
SÍ	1 (1,82)	5 (11,11)	6 (6)

Tabla 12: EICHa según órgano diana afectados.

(g) CLASIFICACIÓN DE LA EICH AGUDA

Para nuestro estudio, hemos tenido en cuenta las siguientes clasificaciones de la enfermedad:

- **Clasificación clínica por grado de afectación por órganos:** piel, hígado e intestino. Estos datos han sido extraídos de las historias clínicas de los pacientes cuyas biopsias cutáneas hemos incluido en nuestro estudio; se trata, por lo tanto, de una valoración retrospectiva de los datos.

- **Clasificación histológica por grado de afectación por órganos:** piel, hígado e intestino. De las tre valoraciones, la que atañe a nuestro estudio es la gradación histológica de las muestras cutáneas, las cuales han sido objeto de nuestro estudio.

- **Clasificación global de la enfermedad:** se realiza, según indica la tabla 2, con la suma de órganos diana afectados y el grado clínico de la afectación de los mismos. Observamos que la gradación histológica cutánea no influye en clasificación global de la EICH aguda.

(I) GRADO DE AFECTACIÓN CLÍNICO

Por el diseño de nuestro estudio, ninguno de los pacientes de los que se extrajeron las muestras consideradas como controles presentaba síntomas de EICHa cutáneo. Sin embargo, el 13,33% de los pacientes que histológicamente eran diagnosticados como EICHa cutánea no presentaban síntomas clínicos en la piel de la enfermedad. Por tanto, ateniéndonos sólo a los criterios clasificatorios clínicos, estaríamos dejando de diagnosticar precozmente aproximadamente el 13% de los pacientes, en nuestra muestra.

(II) GRADO AFECTACIÓN HISTOLÓGICO

Como la clasificación inicial de las muestras se basaba en este criterio, ninguno de los controles presenta signos de EICHa en la biopsia cutánea.

Por el contrario, en las biopsias consideradas como casos, presentan EICHa grado I aproximadamente el 50% de ellas. El 30% presentan grado II y cerca del 18% grado III. Ninguno de nuestros pacientes presentó grado IV histológico.

(III) GRADO DE AFECTACIÓN GLOBAL

Esta clasificación indica los órganos diana afectados y el grado de afectación de los mismos.

En nuestro estudio, el 30% de las biopsias que no presentaban EICHa cutáneo, procedían de pacientes que presentaban EICHa en otro órgano en el momento de la biopsia -la mayoría de ellos a expensas de EICHa digestivo- lo cual los clasifica directamente en un grado global II. De las muestras que presentaban EICHa cutáneo, el 53% tenía grado II, frente al 20%, que solo alcanzaba este grado a expensas de afectación cutánea. Esto significa que en un 30% de los casos, la clasificación global se eleva un grado, fundamentalmente a expensas de la afectación digestiva.

CLASIFICACIÓN DE LA EICH AGUDA			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
GRADO CLÍNICO CUTÁNEO			
0	55 (100)	6 (13,33)	61 (61)
1	0	26 (57,78)	26 (26)
2	0	9 (20)	9(9)
3	0	4 (8,89)	4 (4)
GRADO HISTOLÓGICO CUTÁNEO			

0	55 (100)	0	55 (55)
1	0	23 (51,11)	23 (23)
2	0	14 (31,11)	14 (14)
3	0	8 (17,78)	8 (8)
GRADO GLOBAL (+100 O ANTES)			
0	38 (69,09)	6 (13,3)	44 (44)
1	1 (1,81)	7 (15,56)	8 (8)
2	15 (27,27)	24 (53,33)	9 (9)
3	1 (1,82)	8 (17,78)	9(9)

Tabla 13: evaluación clínica, histopatológica y global de la EICHa.

5. VARIABLES HISTOLÓGICAS Y MOLECULARES

(a) EICH agudo cutáneo con confirmación histológica

Como hemos descrito anteriormente, 45 de nuestras muestras presentaban EICHa confirmado histológicamente en el día +100 postrasplante o antes. Por el contrario, 55 de las muestras, no presentaron EICHa histológico en el momento de la biopsia, realizada en la reevaluación del día +100 postrasplante. La tabla 15 muestra la clasificación de la EICHa cutánea, histológica y global, según la distribución del ADN viral hallado en la muestra.

(b) PCR en piel

La mayoría de los resultados de las PCR de herpes virus realizadas en las biopsias cutáneas resultaron negativas: 86 (86%), en número absolutos globales, de los cuales 37 (82,22%) son casos y 49 (89,09%) controles.

Los resultados fueron positivos en el 14% de las muestras, con las siguien-

tes frecuencias:

HVH-1: 1

HVH-3 (VZV): 3

HVH-5 (CMV): 6

HVH-6: 3

HVH-8 y enterovirus: 1, coincidentes en una misma muestra histológica.

En la tabla 14 apreciamos la distribución de estos resultados en las biopsias que presentan EICHa cutáneo y en las que no lo presentan. La mayor proporción de HVH es para el CMV, con igual proporción en casos y en controles. Así mismo, observamos que el HVH-6, solo aparece en biopsias con EICHa y no en las que no lo presentan.

Debido a la escasa representatividad de la muestra, estos resultados no son estadísticamente significativos, aunque estos resultados concuerdan con la práctica clínica.

RESULTADO DE PCR-HVH EN PIEL			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
NEGATIVO	49 (89,09)	37 (82,22)	86 (86)
HVH_1	1 (1,81)	0	1 (1)
HVH_3_VZV	2 (3,63)	1 (22,2)	3 (3)
HVH_5_CMV	3 (5,45)	3 (6,67)	6 (6)
HVH_6	0	3 (6,67)	3 (3)
HVH_8 y ENTEROVIRUS	0	1 (2,22)	1(1)

Tabla 14: resultado del hallazgo de ADN de herpesvirus mediante PCR.

REPERCUSIÓN DE ADN VIRAL EN LA EICHa

	SIN ADN VIRAL EN BIOPSIA	HVH-1	VVZ	CMV	HVH-6	HVH-8 Y ENTERO VIRUS	TOTAL GRADO (%)
GRADO CLÍNICO CUTÁNEO							
0	54 (88,5)	1 (1,64)	2 (3,27)	4 (6,55)	0	0	61 (100)
1	21 (80,77)	0	0	2 (7,69)	3 (11,53)	0	26 (100)
2	7 (77,78)	0	1 (11,1)	0	0	1 (11,1)	9 (100)
3	4 (100)	0	0	0	0	0	4 (100)
GRADO HISTOLÓGICO CUTÁNEO							
0	49 (89,09)	1 (1,82)	2 (3,63)	3 (5,45)	0	0	55 (100)
1	18 (78,26)	0	0	2 (8,69)	3 (13,04)	0	23 (100)
2	12 (87,5)	0	0	1 (7,14)	0	1 (7,14)	14 (100)
3	7 (87,5)	0	1 (12,5)	0	0	0	8 (100)
GRADO GLOBAL (+100 O ANTES)							
0	39 (88,63)	1 (2,27)	1 (2,27)	3 (6,81)	0	0	44 (100)
1	5 (62,5)	0	0	1 (12,5)	2 (25)	0	8 (100)
2	33 (84,61)	0	2 (5,12)	2 (5,12)	1 (2,56)	1 (2,56)	39 (100)
3	9 (100)	0	0	0	0	0	9 (100)

Tabla 15: clasificación de la EICHa cutánea clínica, histológica y global, según el ADN viral hallado en las biopsias cutánea.

6. REEVALUACIÓN EN EL DÍA +365

(a) Supervivencia en el +365

Disponemos de datos sobre 94 sujetos. Los 6 datos restantes pertenecen a muestras procedentes de pacientes pediátricos, de los cuales no tenemos seguimiento, ya que se realiza en el Servicio de Pediatría y no en el de Hematología.

De los 94 datos de que disponemos, sobrevive el 85% y el 15% fallece an-

tes del año postrasplante.

En la supervivencia al año postrasplante, de los pacientes de nuestra muestra, no encontramos influencia de los siguientes factores, ni de manera independiente ni combinados:

- Edad
- Sexo, aunque en nuestro estudio todos los fallecidos son hombres. Recordemos que hay el doble de mujeres que de hombres
- Enfermedad de base
- Si la muestra pertenece al grupo de casos o controles
- el tipo de acondicionamiento
- el tipo de trasplante
- el HLA mismatch

(b) Enf de base +365

En el recuento obtenemos 94 pacientes, 80 vivos y 14 fallecidos.

La enfermedad de base de estos 94 pacientes se distribuye de la siguiente manera:

- 5 padecían leucemias agudas.
- 3 síndrome mielodisplásico.
- 1 leucemia linfática crónica.

(c) Causa de Exitus

De los pacientes fallecidos, encontramos que en 5 casos se debe a recidiva de la enfermedad de base; en 6 a infección; y 3, a otras causas.

(d) Exitus infeccioso

De los 6 pacientes cuyas muestras analizamos y que fallecieron por causa infecciosa antes del día +365, encontramos que 1 es debida a infección bacteriana, 4 son debidas a infección fúngica y 2 debidas a combinación de las infecciones anteriores (bacteriana -Pseudomona- y fúngica -Aspergillus-) y uno debido a reactivación viral por CMV.

En uno de los pacientes, aunque la causa primaria del éxitus fue la progresión de la enfermedad de base, en el momento del éxitus presentaba reactivación de CMV, y por ello queda aquí incluido en éxitus infeccioso y de ahí la disparidad entre el ítem anterior -en el que se registran 6 éxitus de causa infecciosa- y este apartado -en el que se registran 7 éxitus infecciosos-.

(e) Infección viral en el +365

De los pacientes que sobreviven, sólo uno presentaba infección viral en el +365.

(f) EICH en el +365

De nuestra muestra, el 52.5% de los pacientes desarrollan EICHc cutáneo, independientemente de haber tenido manifestaciones agudas de la enfermedad, coincidiendo con los datos publicados en la literatura (19).

De los que presentaron EICHa cutánea (casos), el 71,87% presentó también EICHc cutánea.

De los que no manifestaron síntomas cutáneos de la enfermedad antes del día +100, el 39,58% presentó EICHc cutánea.

REEVALUACIÓN EN EL DÍA +365 POSTRASPLANTE			
	CONTROLES (%)	CASOS (%)	TOTAL (%)
SUPERVIVENCIA			
NO	7 (12,73)	7 (17,95)	14 (14,89)
SÍ	48 (87,27)	32 (82,05)	80 (85,11)
CAUSA DEL ÉXITUS			
NINGUNA	48 (87,27)	32 (82,05)	80 (85,11)
RECIDIVA E.B	4 (7,27)	1 (2,56)	5 (5,32)
INFECCIÓN	0	6 (15,38)	6 (6,38)
OTRAS	3 (5,45)	0	3 (3,19)
ÉXITUS INFECCIOSO			
BACTERIANA	0	1 (2,56)	1 (1,07)
FÚNGICA	0	4 (10,25)	4 (4,30)
COMBINACIÓN DE LAS ANTERIORES	0	2 (5,13)	2 (2,15)
INFECCIÓN VIRAL			
NO	47 (97,92)	32 (100)	79 (98,75)
SÍ	1 (2,08)	0	1 (1,25)
EICH CUTÁNEO CRÓNICO			
NO	29 (60,42)	9 (28,12)	38 (47,5)
DE PROGRESIÓN	6 (12,5)	23 (71,87)	29 (36,25)
DE NOVO	13 (27,08)	0	13 (16,25)

Tabla 16: reevaluación al año postrasplante.

(g) Tasa de mortalidad

Algunos autores defienden que la aparición de EICH condiciona negativamente la supervivencia de los pacientes, siendo motivo de mayor mortalidad. (26) En nuestro estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la supervivencia de los pacientes que en el día +100 son diagnosticados de EICH y los que no presentan la enfermedad, al año del trasplante.

VII. DISCUSIÓN

1. EICH aguda

(a) definición

Hemos definido EICH aguda y crónica según la división clásica, que atendía al momento de aparición y no según la nueva tendencia, que la clasifica acorde a las manifestaciones clínicas, independientemente del tiempo de aparición (20).

Según la literatura(44), la incidencia de EICH aguda oscila entre el 10 y hasta el 80% de los pacientes sometidos a TPH. En nuestra muestra, el 62% de los pacientes presenta EICHa en al menos un órgano. Según la literatura(11), (99) los porcentajes de afectación según los órganos diana son en el 81% de los casos la piel; en el 54% hay afectación intestinal; y en el 50% de los casos existen datos de EICH aguda hepática, si no se iniciara terapia profiláctica de la enfermedad.

Según el protocolo normalizado de trabajo del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca, se realizaba biopsia cutánea a los pacientes sometidos a TPH siempre que presentaran exantema cutáneo, compatible con EICHa cutánea, en comparación con otros países(96), como Alemania, Austria o Suiza, en los que esta práctica sólo se lleva a cabo en el 35% de los hospitales que realizan TPH.

(b) clasificación

En nuestro estudio, detectamos que un 13,3% de las biopsias que presentan EICHa cutáneo no presentan signos ni síntomas clínicos. En nuestro caso, estas biopsias constituían el diagnóstico precoz de la enfermedad.

Así mismo, observamos que en las clasificaciones actuales de la enfermedad y en la valoración global de la enfermedad no están incluidos los criterios histológicos de las biopsias cutáneas, ni siquiera el grado histopatológico de EICHa cutáneo modifica la valoración global de la enfermedad. En comparación con los criterios histopatológicos digestivos, EICHa por órgano diana en nuestra muestra más frecuentemente asociado a la EICHa cutánea, que cambia la gradación global y si existen manifestaciones digestivas, la clasificación es directamente en grado II.

Según el riesgo de los pacientes que padecen esta enfermedad, la afectación cutánea está reflejada en los cuatro grupos de riesgo estándar. En nuestro estudio, la mayoría de los pacientes pertenecen a este grupo. Es considerado buen respondedor a la terapia estándar con corticoides y con tasas de supervivencia globales mejores que los de alto riesgo, de ahí, podría explicarse la escasa tasa de mortalidad de los pacientes de esta muestra. ¿Podría deducirse por tanto que la afectación cutánea en los grados I-III es un marcador precoz de ECIH, implicado en los casos de menor riesgo?. Algunos investigadores no han conseguido hallar rasgos histológico específicos que puedan predecir la progresión de la EICHa cutánea (100). Por el contrario, otros autores afirman, que la EICHa cutánea predispone a EICHe cutánea, siendo

este en factor de riesgo para la mortalidad en estos pacientes. Esta controversia indica que es necesario seguir trabajando para estratificar el riesgo global de los pacientes e identificar marcadores precoces de respuesta al tratamiento.

Con el cambio en la clasificación clínica(20), hemos de considerar que lo incluido anteriormente como EICHc, actualmente se denomina EICHa de aparición tardía. Con lo cual, las comparaciones directas de las publicaciones que agrupan a los pacientes según diferentes clasificaciones ya no es posible, lo que puede dificultar las revisiones sistemáticas, metaanálisis y comparación de datos.

(c) papel de la histología

Las características histopatológicas de las biopsias que se realizan con sospecha de EICHa cutánea, en ocasiones no ayudan para delimitar el diagnóstico (100). De hecho, una de las características histológicas que se describía inicialmente, como es la presencia de eosinófilos(92), se ha visto que aparece hasta en el 3% de estas biopsias y hasta en el 5% de las biopsias sin signos de EICHa cutánea(93). La presencia de estas células en los infiltrados cutáneos tanto de pacientes trasplantados como de pacientes sometidos a intensos tratamientos de quimioterapia podrían indicar un linfocito-T efector común (12).

Algunos autores, cuestionan la utilidad de la biopsia cutánea (100) en caso de sospecha de EICHa cutánea, fundamentalmente antes de las 3 semanas (101) o del día +30 postrasplante, puesto que no suele cambiar la actitud frente al manejo de la enfermedad(36). En un estudio de 430 biopsias, el

resultado de la misma cambiaba la actitud frente a la enfermedad en 69 (16%) de ellas (102). En la revisión de los datos de nuestra muestra, hemos observado ralentización en cuanto a la disminución de la pauta inmunosupresora de profilaxis de EICH si aparecían manifestaciones cutáneas o se constataban por biopsia. No es un dato que hayamos recogido expresamente para el estudio, pero sí una observación que hemos realizado tras la revisión sistemática de las historias clínicas.

A pesar de las dificultades diagnósticas, en nuestra muestra, hasta el 13% de los diagnósticos de ECIH a cutánea se realizaban por la biopsia de reevaluación en el día +100, aún sin manifestaciones clínicas, siendo la histología un marcador precoz de la enfermedad, es por esto que reivindicamos la importancia del papel de la biopsia cutánea tanto en el diagnóstico como en la variación de la gravedad de la enfermedad, lo cual, actualmente no está reflejado en las clasificaciones vigentes, si bien es cierto que ni el grado clínico ni los hallazgos histológicos influyen en el manejo ni en la mortalidad posterior de la enfermedad (36), (35). El estudio de las biopsias cutáneas puede aportar datos que sirvan como marcadores precoces de la enfermedad, hasta ahora no valorados como tales, como la fibrosis superficial, ensanchamiento papilar y melanófagos dispersos en dermis papilar, que defienden estos autores (103), abogando por la utilidad de la biopsia cutánea (104), (102) en el enfoque de la enfermedad.

La literatura aporta porcentajes más elevados, respecto a los hallados en nuestras biopsias, de daño histológico en piel aparentemente normal en pacientes sometidos a TPH. En este estudio (105), sólo el 24% de las biopsias carecía de rasgos patológicos. Hasta el 45% mostraban rasgos postinflama-

torios y el 31% era compatible con EICH en grados 1 y 2. Estos datos apoyan la tesis de la necesidad de realizar evaluaciones y biopsias cutáneas para el diagnóstico de la enfermedad.

Se han publicado experiencias de casos en los que se han realizado técnicas, como la hibridación in situ con fluorescencia (FISH), no incluidas de manera rutinaria en el protocolo diagnóstico de la mayoría de los centros, en los que se evidencia presencia de linfocitos del donante en las áreas de daño histológico asimiladas como EICH (106).

La biopsia cutánea, no sólo es útil en estos pacientes para el diagnóstico de la EICH cutánea, sino para documentar recaídas o progresión de la enfermedad (102), así como enfermedades infecciosas (102) u otras dermatosis que pueden acontecer en este contexto y que consecuentemente marcan un cambio en el manejo global del paciente.

Recientemente se han publicado artículos que intentan poner en valor el papel de la biopsia, de este modo, la biopsia cutánea positiva para EICHa cutáneo, elevaría el grado de consideración de los síntomas en otro órgano diana de posible EICH a probable EICH, pudiendo repercutir en el tratamiento y manejo de la enfermedad (25).

Algunos investigadores, consideran indispensable revisar y acordar nuevos criterios histopatológicos (93) que ayuden a dirimir estas controversias diagnósticas y adecuar la técnica a la utilidad clínica en la práctica diaria. El estudio de ADN viral mediante PCR en las biopsias, como en nuestro estudio, no aportaría beneficios diagnósticos frente a la técnica de rutina utilizada actualmente.

(d) factores de riesgo

Se han descrito otros factores de riesgo para el desarrollo de EICHa: edad elevada tanto del donante como del receptor, alosensibilización previa -bien por transfusiones o por embarazo-, estadio de la enfermedad, régimen de acondicionamiento, ciertos HLA, esplenectomía, exposición a herpesvirus, incompatibilidad ABO(23).

Los incluidos en nuestro estudio, de los arriba mencionados, no mostraron mayor riesgo de padecer EICHa en nuestros pacientes.

La deplección de linfocitos-T del injerto, que se ha relacionado con mayores tasas de supervivencia (3, 107), y menores de EICH y de viabilidad del injerto (27), no se realiza en nuestro centro.

La decontaminación intestinal total se ha relacionado con menor incidencia de EICH (46). En nuestro centro se realiza profilaxis antibiótica con mero-penem en lugar de esta medida profiláctica.

(e) factores condicionantes

(I) Variables clínicas

- Edad

Gratama, en 1987, asoció la elevada edad del donante con alta incidencia de EICH (46). Posteriormente, otros autores han corroborado esta teoría(23). Sin embargo, en nuestro estudio, la comparación de la edad media entre el grupo de pacientes que desarrollan EICH y los que no la desarrollan, no muestra diferencias estadísticamente significativas.

- **Género, enfermedad de base, acondicionamiento recibido, enfermedad de base y profilaxis**(23), (26).

En nuestra muestra no encontramos diferencias estadísticamente significativas, ni en análisis univariante ni multivariante, que determinen que alguno de estos factores está relacionado con el desarrollo de ECIHa cutánea.

Tampoco encontramos que el haber padecido EICHa cutáneo antes del día +100 predisponga al desarrollo de EICHc (26), (108).

(II) Acondicionamiento

Según la fisiopatología de la enfermedad, los pacientes que han recibido acondicionamiento de intensidad reducida, presentarán menor daño tisular y por tanto, menor reacción inflamatoria y menor riesgo de EICHa. En nuestro estudio no encontramos diferencias entre casos y controles en función del acondicionamiento recibido.

En nuestra muestra, sólo los pacientes que reciben RCT en el acondicionamiento presentan diferencias en cuanto a la incidencia de EICH, en casi el doble del porcentaje, sin que ésto sea estadísticamente significativo.

(f) Evolución/cronificación de la EICH

En nuestra muestra, acorde con la literatura(109), no encontramos diferencias significativas entre el grupo de biopsias que desarrolla EICHc tras haber padecido EICHa (progresión) frente a aquellos que lo desarrollan de novo. Tampoco encontramos diferencias en este aspecto entre las biopsias

en las que hallamos ADN de herpesvirus y en las que no.

La EICHc es la causa de mayor morbimortalidad en los pacientes sometidos a TPH alogénico. La EICHc cutánea, no es un factor pronóstico independiente de este efecto colateral del trasplante (108). En nuestra muestra, aunque las diferencias no sean estadísticamente significativas, casi el 72% de las biopsias cutáneas con EICHa evoluciona a EICHc, acorde a los datos publicados en la literatura, (6), (110) en la que el EICHa es considerado un factor de riesgo para el desarrollo posterior de EICHc (26), (111). Por el contrario, otros autores afirman que la extensión de la EICHc cutánea, especialmente las de carácter progresivo (111) y la de superposición (108), sí están implicadas en la mortalidad específica por enfermedad.

En nuestro estudio, todos los trasplantes en los que la fuente de PH contenía células de CU desarrollaron EICHa cutánea. Según algunos autores, en estos pacientes, la enfermedad obtiene mayor tasa de respuesta al tratamiento con corticoides sistémicos. Los que no responden a este tratamiento tienen mayor tasa de mortalidad y menor tasa de supervivencia global (112).

2. ESTUDIO MOLECULAR

(a) VENTAJAS

El kit de estudio molecular elegido tiene las siguientes ventajas (97):

1 Alta sensibilidad permitiendo la detección de cantidades mínimas de ADN.

Esto supone una gran ventaja en muestras clínicas en las que la cantidad de moléculas de virus son escasas.

2 Detección simultánea de múltiples virus presentes en una misma muestra.

3 Elevada especificidad, al utilizar una secuencia correspondiente a una región altamente conservada dentro del genoma vírico y sondas de captura específicas para cada tipo de Herpes humano y Enterovirus.

4 Fácil de estandarizar en un laboratorio hospitalario.

5 Rápido ya que se obtienen los resultados de los análisis en 8 horas.

La sensibilidad obtenida combinando la amplificación genómica y la visualización en el microarray con el kit CLART[®]ENTHERPEX es tan alta, que no es necesario hacer dobles amplificaciones (nested-PCR), evitando así el riesgo de contaminación que éstas conllevan.

Incluye un control interno para evitar falsos negativos.

(b) LIMITACIONES

Sin embargo, el kit presenta las siguientes limitaciones:

- Recomiendan el uso de biopsias fijadas en formol tamponado durante el menor tiempo posible (nunca más de 24h), para evitar la degradación del DNA/RNA. El empleo de formol no tamponado o la fijación durante más de 24h podría conducir a un resultado falso negativo (97). En nuestro Servicio, las muestras suelen fijarse entre 24 y 48 horas en formol tamponado, posteriormente las muestras han sido incluidas y almacenadas en bloques de parafina.

3. PAPEL DE LOS ANTIVIRALES:

Una vez se ha producido la triple fosforilación, el aciclovir y sus precursores, se integran en el ADN de la célula infectada, actuando como finalizador y por tanto la célula entra en fase de apoptosis. Dado que la primera fosforilación sólo ocurre en las células infectadas por los virus herpes puesto que es catalizada por una timidina kinasa específica del virus, sólo estas células se verán afectadas por el tratamiento. (Rook. 25.21).

Tras la introducción de la profilaxis antivírica, fundamentalmente con aciclovir, la incidencia de reactivaciones de infecciones herpéticas (VHS y VZV) se redujo significativamente (85), sin embargo, en este mismo estudio no se demostraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que había recibido profilaxis con antivíricos frente al grupo control en cuanto al desarrollo de EICH(85). Por tanto, la hipótesis que sostiene mayor tasa de desencadenamiento de la EICH cuando existe reactivación viral frente a cuando no existe, no queda demostrada.

En nuestro estudio, tanto el grupo de casos como de controles recibían profilaxis con aciclovir, por ello, no es posible realizar esta comparación.

La profilaxis frente a la reactivación de CMV o el tratamiento de la misma, se ha demostrado más efectivo con ganciclovir, fundamentalmente la prevención del evento que provoca mayor mortalidad (neumonía)(44). En nuestro estudio, hallamos 32 reactivaciones de CMV, de 98 estudios realizados respecto al número total de pacientes incluidos en el estudio (100). Todos los pacientes respondieron satisfactoriamente a la primera línea de tratamiento que se pautó. En 11 casos fue ganciclovir, en 9 valganciclovir y en 4 fos-

carnet. De estos 32 pacientes con reactivación de CMV 16 eran casos y 16 eran controles.

Dado que en nuestro estudio no hemos detectado ADN viral en la mayoría de las biopsias cutáneas, no consideramos necesario modificar los actuales protocolos de prevención de infecciones virales, puesto que no hemos podido demostrar que la presencia directa de ADN viral desencadene o exacerbe la EICH aguda. Esto no descarta que se produzca por otras rutas biológicas, en los que el tratamiento con antivíricos no estaría justificado, debido a su mecanismo de acción, previamente explicado. Por ello, no tenemos argumentos para sugerir un cambio en los protocolos de profilaxis antivírica actuales(113).

No se ha demostrado relación entre la toma de antivíricos y la implicación de estos en el desarrollo de la EICH(44) hasta la actualidad.

Tampoco se ha podido demostrar disminución de las tasas de ADN del HVH-6 sangre, tras la instauración del tratamiento ni con aciclovir ni con inmunoglobulinas(114).

4. INFECCIÓN VIRAL

La comprobación del estado serológico pretrasplante tanto del donante como del receptor es una práctica clínica habitual en los centros trasplantes. El objetivo es descartar infecciones virales activas en el momento tanto del trasplante como de la donación de PH. La positividad para IgG indica infección pasada y por tanto posibilidad de reactivación de la infec-

ción. La IgM indica infección activa o reciente. La determinación de las serologías postrasplante no es una técnica útil ni recomendable puesto que la capacidad de la respuesta serológica del huésped está mermada(123).

En nuestro estudio no detectamos diferencias entre casos y controles, ni en el estatus serológico pretrasplante, ni en la determinación de ADN viral en las biopsias cutáneas.

(a) HHV SIMPLE 1 Y 2

Gratama, en 1987, asoció la elevada edad y seronegatividad para EBV del donante con alta incidencia de EICH. Sin embargo, relacionó la decontaminación intestinal total, la seronegatividad para herpes simple del donante y la seronegatividad para VEB del receptor, con baja incidencia de EICH(46). Los autores argumentan que cuando el donante presenta seropositividad para VHS, en el momento de la reactivación, se produce una respuesta T policlonal que induce liberación masiva de citocinas, favoreciendo que se desencadene la EICH.

En nuestro estudio, más del 80% de los donantes presentaban seropositividad para el VHS, sin apreciarse diferencias significativas entre casos y controles.

(b) HHV-3 ó VVZ

En una serie de 10 casos que presentaban diseminación de VVZ, sólo 4 de ellos presentaron exantema cutáneo, inicialmente interpretado como EICH cutánea. La expresión cutánea típica aparecía tras más de 10 días de la sintomatología abdominal(1).

Se han publicado casos de afectación del sistema nervioso central (SNC)

por este virus, lo cual es una complicación rara del periodo postrasplante. En un caso de encefalitis por VVZ, la expresión cutánea tampoco se produjo, pudiendo retrasar la sospecha clínica y la confirmación diagnóstica(124). En nuestra muestra no encontramos pacientes con reactivación viral diseminada, ni afectación neurológica viral ni por la EICH.

Algunos autores refieren como factor de riesgo para la reactivación de este virus, la presencia de EICH crónica extensa, frente a aquellos pacientes que presentan esta enfermedad localizada y menor virulencia de reactivación viral(47). Se han descrito casos de aparición de EICHc cutánea, limitada a la zona de reactivación de este virus (125) y reactivación de la enfermedad generalizada posterior a la reactivación viral localizada (126), sugiriendo una relación estrecha entre la reactivación viral y la EICH.

En nuestro estudio no recogimos la extensión de la EICH crónica, sólo la presencia de EICHc cutánea en el día +365 postrasplante, bien progresiva o bien de novo. De los 3 casos registrados en nuestra muestra, 2 pertenecían a biopsias sin EICHcutánea aguda en el día +100 y 1 que sí había presentado EICHa cutánea antes de este día. En la reevaluación del día +365, observamos aparición de EICHc cutánea en uno de los controles, permaneciendo el otro caso, en EICHc cutánea en progresión.

(c) HHV-4 ó VEB

Gratama, en 1987, asoció la seronegatividad para EBV del donante con alta incidencia de EICH. Sin embargo, relacionó la seropositividad del donante y la seronegatividad del receptor para VEB, con baja incidencia de EICH(46). Este fenómeno lo explica gracias al *efecto memoria* de los linfocitos-T citotóxicos específicos tras pasados del donante inmune al receptor

sin inmunidad específica. En el momento de la infección viral, los linfocitos-T citotóxicos específicos, destruirían las células infectadas por el virus, inhibiendo su replicación y por tanto la virulencia de la infección. Ésto generaría una tormenta de citocinas menor que si no tuviera inmunidad específica, modulando, de este modo, la respuesta inmune que genera el desarrollo de la EICH.

Algunos autores comparten la hipótesis de que la reactivación controlada de este virus en el periodo postrasplante mejora la supervivencia global y el tiempo libre de enfermedad(127).

(d) HHV-5 ó CMV

En nuestro centro, la profilaxis de la reactivación viral se realiza con aciclovir, sin embargo, el tratamiento de la reactivación frente a CMV se realiza con ganciclovir o foscarnet. Estos fármacos se han demostrado más activos frente a la infección, sin embargo pueden provocar toxicidad renal y hematológica(128). La reactivación de este virus es considerada un signo de inmunosupresión indirecta, que puede predisponer a otras reactivaciones virales como la del VEB, incluso al desarrollo de enfermedad linfoproliferativa postrasplante(129). En nuestra muestra no encontramos ninguna reactivación viral combinada de estas características.

La mayor parte de la evidencia científica de la relación entre las infecciones por herpes virus y el desarrollo de EICH proviene de las serologías obtenidas pre-trasplante y durante el seguimiento del mismo, particularmente las referidas a CMV(78), (130). Esta relación sugiere un desencadenante o

agravamiento de la enfermedad facilitado por la reactivación de las infecciones virales latentes. Ésto podría explicarse por la existencia de moléculas similares que confunden al sistema inmune eliminando como células infectadas aquellas que pertenecen al huésped. Algunos autores sugieren que eliminando estas moléculas, mejoría la supervivencia global y disminuirían las infecciones por CMV y la incidencia de EICH(131). Otros autores, por el contrario, atribuyen un efecto antileucemia a la reactivación de CMV en el periodo postrasplante, teoría que permanece en controversia(132). Sin embargo, no todos los estudios coinciden en esta teoría, puesto que en algunos estudios, la reactivación de CMV no guardó relación con la precipitación de EICHa(80), ni siquiera en pacientes infectados por el virus de la hepatitis B (VHB)(119).

En nuestro estudio, encontramos reactivación viral confirmada en el 32% de los casos, sin hallar diferencias entre los casos y los controles. Este dato coincide con el porcentaje de reactivación de CMV que estima la literatura, ente el 20-40% de los pacientes trasplantados(133), (67). Este porcentaje es ligeramente superior en los pacientes cuya fuente de progenitores es el cordón umbilical(130).

De los pacientes que fallecen antes del año postrasplante, que en nuestro estudio son 14; 8 (57,14%) no presentaron reactivación frente a CMV, frente a los 6 (42,8%) que sí la presentaron. En nuestra muestra no hay diferencia significativas entre ambos grupos, aunque presentan menor mortalidad, en porcentajes absolutos, los que sufrieron reactivación de CMV que los que no la experimentaron.

Otros autores intentaron encontrar indicios en las biopsias, al igual que nosotros, que condujeran a la presencia de CMV, sin embargo, tampoco se ha podido demostrar esta teoría mediante técnicas inmunohistoquímicas(118).

A parte de instaurar tratamiento antivírico y testar la sensibilidad al mismo, el incluir a otras terapias, como las inmunoglobulinas intravenosas, en el tratamiento estándar postrasplante no han demostrado prevención de la reactivación de CMV(134). Además, la infección por CMV de las células pluripotenciales mesenquimales, otra alternativa terapéutica ensayada en estos pacientes, les hace perder sus potencialidades(135) y por tanto su efectividad.

Algunos autores han reportado beneficios en cuanto a menor incidencia de EICH y mayor supervivencia en pacientes que recibían los PH de donantes con seropositividad para CMV. Así mismo, obtenían beneficio también frente a las reactivaciones de VEB y HHV-6(136).

(e) HHV-6

Nuestras muestras fueron tomadas de biopsias en parafina, almacenadas durante meses. En este estudio, en el que la viremia y la detección de HHV-6 tiene correlación con el exantema, las biopsias fueron almacenadas a -80°C hasta la extracción de ADN(117). La conservación de las biopsias y el análisis prospectivo y no retrospectivo, como en nuestro estudio, puede influir en la detección de ADN.

Se ha relacionado el tipo de acondicionamiento estándar(137) y la infusión de precursores hematopoyéticos de cordón umbilical (65) con mayor riesgo de reactivación de HHV-6. La reactivación de este virus se ha encontrado estadísticamente significativa como elemento desencadenante de EICH(138), (139), (140) y como factor de riesgo que aumenta la mortalidad no relacionada con la enfermedad de base. En esta misma línea teórica, se ha relacionado a la reactivación viral mediante antigenemia y PCR-RQ (real quantitative: cuantitativa, realizada a tiempo real), con la precipitación de EICHa(80). No todas las publicaciones científicas coinciden en estas afirmaciones, puesto que encontrar ADN de HHV-6 en sangre no se ha relacionado con aumento de la mortalidad, ni las manifestaciones clínicas se expresan en consonancia con la carga viral (141), (142), (143). Esta disparidad en los datos puede deberse a la heterogeneidad de los métodos utilizados tanto en la recogida, el procesamiento de las muestras o la interpretación, no siendo directamente comparables unos resultados con otros.

En nuestra muestra, en todas las biopsias en las que se halló ADN de HHV-6 presentaban características de EICHa cutáneo. Acorde con otras experiencias publicadas en la literatura, en las que la reactivación por HHV-6 se considera una causa de EICH y no una consecuencia del acondicionamiento(122). Además, sugiere que la presencia de HHV-6 en el tejido puede ser un factor que determine la gravedad de la EICH(122). En nuestro estudio, las biopsias que presentaron ADN viral presentaban un cuadro clínico, histológico y global compatible con grado I.

Las tres teorías o modelos etiopatogénicas que relacionan al HHV-6 con la aparición de la EICH son(117):

- El exantema viral causado por la infección.
- El HHV-6 actúa como elemento detonante de la cascada inmunológica.

- La EICH induce la reactivación de este tipo viral.

En nuestros pacientes, no encontramos meningoencefalitis relacionadas con reactivaciones virales por HVH-6. La incidencia estimada en la literatura es menor del 1% (144). La manifestación clínica más frecuente es la confusión (144) acompañada de exantema cutáneo, por ello, los dermatólogos debemos tener en cuenta esta complicación, rara pero fatal, en la valoración de estos pacientes.

A pesar de las revisiones (58), (145), (146) publicadas respecto a la biología de este virus y su relación en los pacientes sometidos a TPH, no está claro el papel que desempeña en ellos ni en la evolución de la EICH.

(f) HHV-7

El HVH-7 se ha descrito recientemente y en la literatura se asocia al HVH-6, debido a su similitud estructural y patogénica.

Las principales manifestaciones clínicas de este virus en los pacientes trasplantados(147), descritas en la literatura, son exantema cutáneo, hepatitis, retraso en el injerto y EICH, entre otras.

Este virus se, al igual que el HVH-6, se ha asociado como cofactor al CMV.

(g) HHV-8

Este virus se ha asociado clásicamente al sarcoma de kaposi (SK), bien en su variante clásica o, más recientemente, asociado a la infección por virus

de a inmunodeficiencia humana (VIH) (148) .

En nuestra muestra, hallamos una biopsia con ADN de este virus en coinfección con enterovirus. No encontramos relación con la enfermedad de base ni con la clínica del paciente.

A pesar de que el sarcoma de kaposi se asocia a inmunodeficiencia o inmunodepresión, en la literatura no hallamos asociación entre el SK y la EICH, a pesar de que ambas están relacionadas con infección viral.

(h) infección viral como desencadenante de la enfermedad de base

Al igual que nos preguntamos si existe ADN de herpes virus en la piel de pacientes con EICHa cutánea, otros autores investigaron si el ADN de algunos herpes virus estaba en muestras de médula ósea de pacientes con LLA, investigando la hipótesis del papel oncogénico de estos virus. Mediante estudio de PCR no hallaron ADN viral en las muestras(149).

(i) Estudios similares

En la literatura se ha publicado un estudio con un diseño similar al nuestro, con biopsias obtenidas de intestino(115), el otro órgano diana más afectado por la enfermedad, junto a la piel. Los datos corroboran nuestros resultados. No se halló mayor tasa de EICH en los pacientes de cuyas biopsias se obtuvo ADN viral. Los resultados en mortalidad no estuvieron influidos por el hallazgo de ADN de HHV-6.

En este estudio se manifiesta la duda de la relevancia clínica del hallazgo de ADN viral en las muestras y se cuestiona el papel del HHV-6 como desen-

cadena de EICH o si se trata solamente de un hallazgo casual(115).

5. OTROS FACTORES DEL TRASPLANTE IMPLICADOS EN LA EICH

(a) Tasa de mortalidad

Los pacientes de nuestro estudio presentan una mortalidad en el +365 del casi 15%, en comparación con los datos de la literatura, cuya tasa de mortalidad es más elevada. Puede influir en estos datos, tanto el tipo de acondicionamiento, aunque no hay diferencias significativas, como un sesgo de selección, ya que por el diseño de nuestro estudio, podríamos haber excluido a los pacientes más graves.

Para algunos autores, la EICH es la primera causa de muerte postrasplante(5), (150), (151).

En nuestra muestra, la mayor tasa de mortalidad es debida a infecciones, en contraste con los datos publicados en la literatura, en la que la principal causa de mortalidad no relacionada con la enfermedad es debida a EICH(151). Las infecciones aparecen sólo en los pacientes con EICHa cutánea. La siguiente causa de mortalidad es la recidiva o progresión de la enfermedad de base. En este caso, los pacientes que no han desarrollado EICH antes del día +100 (controles) son la proporción más numerosa. En estos casos que no desarrollan EICH, ¿estaríamos también ante casos que no desarrollan el efecto de enfermedad contra leucemia y ser esta falta de respuesta la causa de la muerte?. En la literatura hay opiniones que apoyan esta teoría, aunque en nuestra muestra no tenemos argumentos para defenderla(11).

Según algunos autores, hasta el 85% de las muertes post TPH se deben a uno de los factores anteriores(44).

Algunos autores defienden que la aparición de EICH condiciona negativamente la supervivencia de los pacientes, siendo motivo de mayor mortalidad(26), (3), (111). En nuestro estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la supervivencia de los pacientes que en el día +100 son diagnosticados de EICH y los que no presentan la enfermedad, al año del trasplante.

En nuestra muestra, la mortalidad no está influida ni por el grado clínico cutáneo, ni por el grado histológico cutáneo, ni por la clasificación global de la enfermedad.

Nuestros datos concuerdan con lo publicado por Zhou et al (36), quienes defienden que la gravedad histológica cutánea de la EICH no influye en la mortalidad ni en la gravedad global y consecuentemente no modifican las pautas de abordaje general de la enfermedad.

En nuestra muestra, sólo uno de los pacientes que presenta ADN viral en la histología fallece. El resto, permanecen vivos en el +365. Por tanto, este hallazgo no supone más mortalidad en nuestra muestra.

Algunos autores proponen las reactivaciones virales tempranas y controladas de CMV(152) y VEB como beneficioso para la supervivencia global. Estas reactivaciones, combinadas con EICHc tienen tasas de mayor tiempo libre de enfermedad(152). En nuestro estudio, no hay diferencias entre los que desarrollan reactivación de CMV antes del día+100 y la mortalidad en el +365, ni globalmente, ni estratificados entre los que presentan EICH y los que no en las biopsias de evaluación.

(b) Serologías CMV pre y post trasplante

La reactivación de este virus se ha relacionado con la precipitación de la EICH.

Reactivación de CMV (41):

La tasa de reactivación global de este virus se sitúa entre el 60-80%. Estos porcentajes varían en función del estatus serológico pretrasplante tanto de donante como de receptor, como detallamos a continuación:

R+/D-: la tasa de reactivación es similar a la global. En este supuesto de estatus serológico, el receptor, que pierde parte de su inmunidad, pero no de la probabilidad de reactivación viral, es reconstituido con células naïve para esta infección.

R+/D+: la tasa es similar a la anterior o discretamente inferior (50-60%)

R-/D+: El riesgo de reactivación viral desciende hasta el 10-30%.

R-/D-: las tasas de reactivación viral en estos casos suponen menos del 5%

Algunos tipos de acondicionamientos, especialmente cuando tanto donante como receptor han tenido contacto con el CMV, han demostrado aumentar la reactivación viral, por ello, se recomiendan dosis bajas de algunos inmunosupresores(153) en estas circunstancias.

EICH crónica:

Varios estudios han sugerido, que la seropositividad del donante para CMV,

unida o no a la seropositividad del receptor frente a este mismo virus, predisponen al desarrollo de EICHc(44). La positividad serológica del donante pretrasplante, para más de tres herpesvirus también predispone al desarrollo de EICHc (44).

(c) Compatibilidad HLA

La mayoría de los estudios relacionan la disparidad HLA con la aparición de EICH aguda(10), (154) y con fallo o retraso en el injerto (55). Algunos autores, no encuentran diferencias entre la tasa de mortalidad global ni de fallo de injerto cuando hay disparidad de HLA entre donante y receptor, independientemente de la fuente de PH (109). Sin embargo, la tasa de EICHa es similar para aquellos que reciben CU con HLA dispar (mismatch) o PHSP con HLA idéntico, considerando, por tanto el CU una fuente de PH válida cuando no encontramos donante HLA-idéntico de otra fuente, puesto que no influye en el desarrollo de EICHa (109).

A pesar de que los trasplantes sean HLA-idénticos, la incidencia de EICH aguda oscila entre el 26-30%, aumentando en los trasplantes no emparentados, HLA mismatch hasta el 42-52%(155), (27).

En nuestro estudio, todos los trasplantes fueron alogénicos, con un mismatch del 10%, el resto, fueron trasplantes con HLA idéntico (90%), con una distribución homogénea entre los casos y los controles. No podemos estimar la aparición de EICHa debido al diseño de nuestro estudio.

(d) Profilaxis EICH

A pesar de la disparidad HLA, nuevos estudios en la profilaxis de la EICH, minimizan estas diferencias en la mortalidad global, a favor de las nuevas

moléculas (sirolimus y tacrolimus)(156)

Comentar en relación a nuestros resultados y a los 20 datos de regímenes que faltan.

(e) Género R-D

Observamos cierta tendencia a padecer EICHa cutáneo cuando el donante es una mujer, sin ser estos datos estadísticamente significativos en nuestro estudio.

En estudios publicados recientemente, de pacientes trasplantados entre los años 2000 y 2014, se observa la misma tendencia, cuando los trasplantes no son emparentados y proceden de células de cordón umbilical (CU), los pacientes varones, que reciben células de mujeres, tienen tendencia a padecer más tasa de EICH y de mayor gravedad (157). Estos datos coinciden con los de nuestro estudio, aunque en nuestra muestra no hallamos significación estadística.

(f) Plaquetas

El conteo de plaquetas está considerado como un factor pronóstico independiente (108), (111).

(g) Otras rutas de precipitación de la EICH:

Algunos autores sugieren que partículas virales, pueden actuar como antígenos, capaces de estimular al sistema inmune, desarrollando o agravando la EICH(44).

Algunos autores han publicado pequeñas series de casos, en los que la EICHa cutánea, comparte expresión molecular con infecciones virales, sin

determinar la implicación en el desarrollo de la enfermedad(158).

Las infecciones virales pueden desencadenar fenómenos autoinmunes por dos vías, que no son mutuamente excluyentes(89):

- mimetismo molecular
- coestimulación

Actualmente, la comunidad científica continúa buscando las claves de los fenómenos auto o aloinmunes(159) que nos conduzcan a un mayor entendimiento y mejor manejo de la enfermedad injerto contra huésped.

(h) Nuevas perspectivas terapéuticas

Recientemente, se han publicado avances en el tratamiento de las infecciones virales, mediadas por líneas celulares T, específicas frente a células infectadas por algunos tipos de herpesvirus(VEB, CMV, HHV-6)(160), con buenas perspectivas terapéuticas. Estas deben ser reafirmadas con estudios posteriores y podrían ser ampliadas al tratamiento o prevención de la EICH, sin limitar en efecto de injerto contra leucemia.

Por el contrario, se han descrito dermatosis consideradas inmunomediadas (161) tras el tratamiento con linfocitos-T modificados (162), (163) y antivíricos, lo que evidencia la compleja relación entre piel, fármacos y herpesvirus en los fenómenos de aloinmunidad de la EICH.

Así mismo, los herpesvirus, debido a una de sus características infectivas, la latencia, podrían ser usados como vectores, que indujeran cambios permanentes en las dianas que desencadenan la enfermedad, mejorando así su pronóstico (164) y el arsenal terapéutico. Actualmente, estos cambios pueden ser inducidos por fármacos, como imatinib, en la leucemia linfática crónica.

Recientemente se han publicado experiencias de viroterapia oncolítica en melanoma, mediante modificación de HVH-1, Talimogene Lahereparepvec (T-Vec), que podrían ampliar estas perspectivas. De este modo, podemos poner al servicio de los pacientes, las características de las infecciones virales y convertir en beneficioso lo que actualmente consideramos como una limitación.

Otro campo de estudio en el que se está avanzando es la detección genética de sujetos predispuestos a padecer mayor tasa de infecciones o reactivaciones virales y sus respuestas en la EICH (165).

Recientemente se ha publicado que los linfocitos-T citotóxicos específicos de CMV pueden interferir en la respuesta de los tratamientos en los pacientes con EICH (166).

Son necesarias más investigaciones que puedan aclarar la relación entre la infección y la reactivación viral con el curso de la enfermedad injerto-contrahuésped, de modo que nuestros pacientes puedan obtener mayor supervivencia y calidad de vida, con la menor morbilidad posible.

VIII. LIMITACIONES DE NUESTRO ESTUDIO

Otras rutas de precipitación de la enfermedad

- Según algunos autores, los herpes virus en estado latente, pueden actuar como antígenos menores de histocompatibilidad o bien mediante mecanismos desconocidos, desencadenando EICH(79) sin necesidad de encontrarse las partículas virales completas. De ahí, que en nuestro estudio, no hayamos hallado ADN viral en las muestras, que permitan emitir un juicio pronóstico.

- Las células específicas antivirales (Linfocitos-T citotóxicos), podrían precipitar la reacción inflamatoria responsable de la EICH sin necesidad de que esta reacción esté mediada por la partícula viral(89).

- Según algunos autores, el DNA viral, negativiza en sangre y mucosas entre 1-2 semanas antes de que se produzca el exantema(114), (89). Al igual que ocurre en sangre, el motivo de no encontrar ADN viral en piel podría ser el mismo, de ahí nuestros hallazgos.

Todo ello conduce a la hipótesis de que podría desencadenarse la EICH cutánea sin necesidad de que el virus se encuentre en la piel y por ello no hayamos encontrado su ADN mediante técnicas moleculares.

Elección inadecuada del método de detección molecular

- Las biopsias sobre las que realizamos las técnicas de detección se fijaron en formol y se conservaron en parafina. Aunque el kit utilizado permite hacer este análisis, sin embargo recomiendan realizar el estudio sobre muestras no procesadas -en fresco-, ya que se obtiene mayor sensibilidad. Este podría ser otro de los motivos de la baja tasa de detección de ADN viral en nuestro estudio.

Características de la muestra

- No realizamos estudio del tamaño muestral, aunque, en relación a la literatura publicada, nuestro tamaño muestral está acorde con el resto de publicaciones. Este podría ser otro motivo por los cuales esta investigación no alcanza la significación estadística suficiente para ser extrapolada a otras muestras diferentes a las nuestra, sin poder asegurar que nuestros resultados sean debidos al azar.

- Puesto que nuestra fuente de la cual seleccionamos a los pacientes es la base de Anatomía Patológica y no todos los pacientes trasplantados, dejamos fuera de nuestro estudio a los pacientes que no son sometidos a biopsia cutánea, constituyendo un posible sesgo de selección de los pacientes que no llegana biopsiarse, sea cual sea el motivo.

IX. CONCLUSIONES

1. CONCLUSIONES DE LOS OBJETIVOS GENERALES

1.- En nuestra serie, el 14% de las biopsias, de los pacientes sometidos a TPH incluidos en la muestra, presentaron ADN de herpesvirus.

2.- En nuestra serie, hallamos ADN viral herpético en el 17,78% de las biopsias que presentaron EICHa cutánea (casos) frente al 10,9% de las biopsias que no presentaron EICHa cutánea (controles) y en las que hallamos ADN viral. Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

2. CONCLUSIONES DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Encontramos ADN de HVH-6 y HVH-8 solamente en las biopsias de piel que presentaron signos histopatológicos de EICHa cutánea (casos). Por el contrario, la detección de HVH-1 solamente se halló en aquellas biopsias de piel que no presentaron estos signos (controles). La detección de ADN de VEB y de CMV fue registrada en ambos grupos. Estas diferencias intergrupales no mostraron significación estadística.

2.- En nuestra muestra no encontramos características clínicas que se relacionasen de manera estadísticamente significativa en el desarrollo de EICHa cutánea.

3.- No hemos hallado diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes que presentan EICHa cutánea y los que no la presentan en relación a las variables del trasplante y las condiciones en que se realizó.

4.- En nuestra serie, no hallamos diferencias estadísticamente significativas entre el estado serológico frente a los herpesvirus monitorizados (VHS, VVZ, VEB, CMV) pretrasplante entre el donante y el receptor del mismo.

5.- En el 32,65% de nuestros pacientes se produjo reactivación de CMV en los primeros 100 días postrasplante, hallándose ADN de este herpesvirus en el 6% del total de la muestra. No hallamos diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que presentaron EICHa cutánea y los que no la presentaron ni en cuanto a la incidencia de la reactivación de CMV ni en cuanto a la presencia de ADN de CMV en las biopsias cutáneas.

6.- La presencia de ADN viral herpético en las biopsias cutáneas no está correlacionada con el grado de gravedad clínico cutáneo, histológico ni global de EICHa.

7.- En nuestra muestra, el 13,3 % de los pacientes con EICHa cutánea, no habrían sido diagnosticados precozmente si no hubiéramos realizado la biopsia cutánea de evaluación en el día +100 postrasplante, puesto que no manifestaban síntomas clínicos cutáneos de la enfermedad en el momento de la realización de la biopsia.

8.- En nuestra serie, ni la presencia de EICHa cutánea -clínica y/o histológica- ni el hallazgo de ADN viral en las biopsias cutáneas predisponen a pa-

decer EICHc cutánea. La presencia de ADN de herpesvirus en las biopsias cutáneas no indica menor tasa de supervivencia al año postrasplante. Sólo un paciente con presencia de ADN viral (CMV) en la biopsia es éxitus al año postrasplante, el resto sobreviven.

9.- En base a los resultados obtenidos en nuestro estudio no es posible validar la realización sistemática de PCR para la determinación de ADN viral en las biopsias cutáneas de los pacientes sometidos a TPH, ya que no ha demostrado utilidad diagnóstica y carece de valor predictivo en cuanto a la evolución de la enfermedad de injerto contra huésped cutánea y global en estos pacientes.

Este trabajo, como *prueba de concepto*, aporta argumentos que permiten no seguir avanzando en esta línea de investigación en la relación entre EICHa cutánea y la presencia de ADN de herpesvirus en las biopsias de piel de pacientes sometidos a TPH, puesto que no ha demostrado utilidad.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Donald s D, Bernard R T, Margaret R O, I.Benjamin P, and Todd M M. Visceral Varicella-Zoster after bone marrow transplantation: report of a case series and review of the literature. *Am J Gastroenterol* 1998;93,810-3.
2. López-Anglada L, Vázquez L, Pérez-Simón JA, Dávila I, Santos-Briz A, García L, and Caballero D. Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) after an unrelated donor BM transplant. *Bone Marrow Transplant*. England; 2011. p. 1487-8.
3. Goldman JM, Gale RP, Horowitz MM, Biggs JC, Champlin R E, Gluckman E, and et al. Bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia in chronic phase. Increased risk for relapse associated with T-cell depletion. *Ann Intern Med* 1988;108:806-14.
4. Apperley JF, Mauro FR, Goldman JM, Gregory W, Arthur CK, Hows J, and et al. Bone marrow transplantation for chronic myeloid leukaemia in first chronic phase: importance of a graft-versus-leukaemia effect. *Br J Haematol* 1988;69:239-245.
5. Appelbaum FR. Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy. *Nature*. England; 2001;411(6835):385-9.
6. Hymes SR, Alousi AM, and Cowen EW. Graft-versus-host disease: part I. Pathogenesis and clinical manifestations of graft-versus-host disease. *J Am Acad Dermatol*. United States; 2012;66(4):515.e1-18; quiz 533-4.
7. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, and Holler E. Graft-versus-host disease. *The Lancet*. Elsevier BV; 2009;373(9674):1550-1561.
8. Reddy P, and Ferrara JL. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Blood Reviews*. Elsevier BV; 2003;17(4):187-194.
9. Reddy P, Socié G, Cutler C, and Weisdorf D. GVHD prevention: an ounce is better than a pound. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States;

2012;18(1 Suppl):S17-26.

10. Sun Y, Tawara I, and Toubai T. Pathophysiology of Acute Graft-vs-Host Disease- Recent Advances. *Transl Res* 2007;150:197-214.

11. Reddy P, and Ferrara JLM. Graft-versus-host disease and Graft-Versus-Leukemia Responses. In *Capitulo 109 Graft-versus-host disease and Graft-Versus-Leukemia Responses*.

12. Ferrara JL, Levy R, and Chao NJ. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-vs.-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999;5:347-56.

13. Socié G, and Blazar BR. Acute graft-versus-host disease: from the bench to the bedside. *Blood*. United States; 2009;114(20):4327-36.

14. Sung AD, and Chao NJ. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. *Stem Cells Transl Med*. United States; 2013;2(1):25-32.

15. Paczesny S, Krijanovski OI, Braun TM, Choi SW, Clouthier SG, Kuick R, and et al. A biomarker panel for acute graft-versus-host disease. *Blood*. United States; 2009;113(2):273-8.

16. Paczesny S, Braun TM, Levine JE, Hogan J, Crawford J, Coffing B, Olsen S, Choi SW, Wang H, Faca V, Pitteri S, Zhang Q, Chin A, Kitko C, Mineishi S, Yanik G, Peres E, Hanauer D, Wang Y, Reddy P, Hanash S, and Ferrara JL. Elafin is a biomarker of graft-versus-host disease of the skin. *Sci Transl Med*. United States; 2010;2(13):13ra2.

17. Li H, Kaplan DH, Matte-Martone C, Tan HS, Venkatesan S, Johnson K, and al. Langerhans cells are not required for graft-versus-host disease. *Blood*. 2013;117:697-707.

18. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, Palmer J, Weisdorf D, Treister NS, Cheng GS, Kerr H, Stratton P, Duarte RF, McDonald GB, Inamoto Y, Vigorito A, Arai S, Datile MB, Jacobsohn

D, Heller T, Kitko CL, Mitchell SA, Martin PJ, Shulman H, Wu RS, Cutler CS, Vogelsang GB, Lee SJ, Pavletic SZ, and Flowers ME. 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. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2015;21(3):389-401.e1.

19. Martin PJ, Lee SJ, Przepiorka D, Horowitz MM, Koreth J, Vogelsang GB, Walker I, Carpenter PA, Griffith LM, Akpek G, Mohty M, Wolff D, Pavletic SZ, and Cutler CS. 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. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2015;21(8):1343-59.

20. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P, Chien J, Przepiorka D, Couriel D, Cowen EW, Dinndorf P, Farrell A, Hartzman R, Henslee-Downey J, Jacobsohn D, McDonald G, Mittleman B, Rizzo JD, Robinson M, Schubert M, Schultz K, Shulman H, Turner M, Vogelsang G, and Flowers ME. 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. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2005;11(12):945-56.

21. Martin PJ, Weisdorf D, Przepiorka D, Hirschfeld S, Farrell A, Rizzo JD, Foley R, Socie G, Carter S, Couriel D, Schultz KR, Flowers ME, Filipovich AH, Saliba R, Vogelsang GB, Pavletic SZ, Lee SJ, and Design of Clinical Trials Working Group. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: VI. Design of Clinical Trials Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2006;12(5):491-505.

22. Matsuoka LY. Graft versus host disease. *J Am Acad Dermatol* 1981;5:595-599.
23. Deeg HJ, and Antin JH. The clinical spectrum of acute graft-versus-host disease. *Semin Hematol. United States*; 2006;43(1):24-31.
24. MacMillan ML, Robin M, Harris AC, DeFor TE, Martin PJ, Alousi A, Ho VT, Bolaños-Meade J, Ferrara JL, Jones R, Arora M, Blazar BR, Holtan SG, Jacobsohn D, Pasquini M, Socie G, Antin JH, Levine JE, and Weisdorf DJ. A refined risk score for acute graft-versus-host disease that predicts response to initial therapy, survival, and transplant-related mortality. *Biol Blood Marrow Transplant. United States*; 2015;21(4):761-7.
25. Harris AC, Young R, Devine S, Hogan WJ, Ayuk F, Bunworasate U, Chanswangphuwana C, Efebera YA, Holler E, Litzow M, Ordemann R, Qayed M, Renteria AS, Reshef R, Wöfl M, Chen YB, Goldstein S, Jagasia M, Locatelli F, Mielke S, Porter D, Schechter T, Shekhovtsova Z, Ferrara JL, and Levine JE. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;.
26. Johnson ML, and Farmer ER. Graft-versus-host reactions in dermatology. *J Am Acad Dermatol* 1998;38:369-92.
27. Hu SW, and Cotliar J. Acute graft-versus-host disease following hematopoietic stem-cell transplantation. *Dermatol Ther.* 2011;24:411-23.
28. Borregón P, Ceballos C, Campos M, and Pulido A. Pediatric graft versus host disease. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66S1:AB166.
29. Goddard DS, Horn BN, McCalmont TH, and Cordero KM. Clinical update on graft-versus-host disease in children. *Semin Cutan Med Surg. United States*; 2010;29(2):92-105.

30. Martyn-Simmons C, Osborne G, Creamer D, and du Vivier A. Generalized eczematoid graft-versus-host disease: presentation, natural history and treatment. *J Am Acad Dermatol* 2005;AB8.
31. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, and Thomas ED. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*.1974;18:295-304.
32. Hettiaratchy S, and Papini R. Initial management of a major burn: II--assessment and resuscitation. *BMJ. England*; 2004;329(7457):101-3.
33. Lerner KG, Kao GF, Storb R, Buckner CD, Clift RA, and Thomas ED. Histopathology of graft-vs.-host reaction (GvHR) in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplant Proc. UNITED STATES*; 1974;6(4):367-71.
34. Hymes SR, Farmer ER, Lewis PG, Tutschka PJ, and Santos GW. Cutaneous graft-versus-host reaction- Prognostic features seen by light microscopy. *J Am Acad Dermatol* 1985;12;468-474.
35. Darmstadt GL, Donnenberg AD, Vogelsang GB, Farmer ER, and Horn TD. Clinical, laboratory, and histopathologic indicators of the development of progressive acute graft-versus-host disease. *J Invest Dermatol* 1992;99:397-402.
36. Zhou Y, Barnett MJ, and Rivers JK. Clinical significance of skin biopsies in the diagnosis and management of graft-vs-host disease in early post-allogeneic bone marrow transplantation. *Arch Dermatol*. 2000;136:717-21.
37. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hovs J, and Thomas ED. Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15:825-8.
38. Goyal RK, Goyal M, and Sankaranarayan K. Grading acute graft-ver-

- sus-host disease: time to reconsider. *Pediatr Transplant*. Denmark; 2015;19(3):252-4.
39. Whitley RJ. Herpesviruses. In *Medical Microbiology*. 4th.
40. Sterling JC. Virus infections. In *Rook's textbook of Dermatology*. 8th. p. 33.14-35.
41. Marty FM, and Baden LR. Infection in the Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipient. In *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. Second. Boston; 2008. p. 421-448.
42. Barber S. Allogeneic bone marrow transplantation- implications of herpesvirus screening and diagnosis. *Br J Biomed Sci* 1998; 55,281-6.
43. Ringdén O. Correlation of pretransplant viral serology and complications of bone marrow transplantation. *Ann Hematol* 1992;64,143-7.
44. Saral R. Acyclovir influence on graft versus host disease. *Journal of Medical Virology* 1993;S1:112-117.
45. Naik HR, and Chandrasekar PH. Herpes simplex virus (HSV) colitis in a bone marrow transplant recipient. *Bone Marrow Transplant* 1996;17,285-6.
46. Gratama JW, Zwaan FE, Stijnen T, Weijers TF, Weiland HT, D'Amato J, and Et al. Herpes-Virus immunity and acute graft-versus-host disease. *Lancet* 1987;1:471-4.
47. Koc Y, Miller KB, Schenkein DP, Griffith J, Akhtar M, DesJardins J, and al. Varicella zoster virus infections following allogeneic bone marrow transplantation- frequency, risk factors, and clinical outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000;6:44-9.
48. Cohen JM, Cooper N, Chakrabarti S, Thomson K, Samarasinghe S, Cubitt D, Lloyd C, Woolfrey A, Veys P, and Amrolia PJ. EBV-related disease following haematopoietic stem cell transplantation with reduced intensity

- conditioning. *Leuk Lymphoma*. England; 2007;48(2):256-69.
49. Meijer E, and Cornelissen JJ. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk patients. *Curr Opin Hematol*. United States; 2008;15(6):576-85.
50. Boeckh M. Current antiviral strategies for controlling cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: prevention and therapy. *Transplant Infect Disease* 1999;1;165-178.
51. Meyers JD. Cytomegalovirus infection following marrow transplantation: risk, treatment and prevention. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1984; 20,101-17.
52. Dieamant DC, Bonon SH, Peres RM, Costa CR, Albuquerque DM, Miranda EC, Aranha FJ, Oliveira-Duarte G, Fernandes VC, De Souza CA, Costa SC, and Vigorito AC. Cytomegalovirus (CMV) genotype in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *BMC Infect Dis*. England; 2013;13:310.
53. Gratama JW. Graft-versus-host disease and viral infections. *Curr Opin Immunol* 1989;1,1221-4.
54. Meijer E, Boland J, and Verdonck F. Prevention of Cytomegalovirus Disease in Recipients of Allogeneic Stem Cell Transplants. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003;16(4):647-657.
55. Xiao Y, Song J, Jiang Z, Li Y, Gao Y, Xu W, Lu Z, Wang Y, and Xiao H. Risk-factor analysis of poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Med Sci*. Australia; 2014;11(6):652-7.
56. Baldanti F, Lilleri D, and Gerna G. Human cytomegalovirus load measurement and its applications for pre-emptive therapy in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Hematol Oncol*. England;

2008;26(3):123-30.

57. Cantoni N, Hirsch HH, Khanna N, Gerull S, Buser A, Bucher C, Halter J, Heim D, Tichelli A, Gratwohl A, and Stern M. Evidence for a bidirectional relationship between cytomegalovirus replication and acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* United States; 2010;16(9):1309-14.

58. Braun DK, Domínguez G, and Pellett PE. Human Herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev* 1997;10;521-567.

59. de Pagter PJ, Schuurman R, Meijer E, van Baarle D, Sanders EA, and Boelens JJ. Human herpesvirus type 6 reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Virol.* Netherlands; 2008;43(4):361-6.

60. De Bolle L, Naesens L, and De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin Microbiol Rev.* United States; 2005;18(1):217-45.

61. Koch WC. Fifth (human parvovirus) and sixth (herpesvirus 6) diseases. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14,343-56.

62. Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, Nakashima T, Yazaki T, Sobue R, and et al. Human herpesvirus-6 infection in bone marrow transplantation. *Blood* 1991; 78,1381-4.

63. Tiacci E, Luppi M, Barozzi P, Gurdo G, Tabilio A, Ballanti S, and et al. Fatal herpesvirus-6 encephalitis in a recipient of a T-cell-depleted peripheral blood stem cell transplant from a 3-loci mismatched related donor. *Haematologica* 2000; 85:94-7.

64. Kadakia MP. Human herpesvirus 6 infection and associated pathogenesis following bone marrow transplantation. *Leuk lymphoma* 1998; 31,251-66.

65. The complex relationship between human herpesvirus 6 and acute graft-

versus-host disease.pdf. The complex relationship between human herpesvirus 6 and acute graft-versus-host disease.pdf.

66. Dzieciatkowski T, Przybylski M, Kawecki D, Gieryńska M, Sulowska A, Torosian T, Luczak M, Jedrzejczak WW, and Młynarczyk G. [Frequency of detection of human herpesvirus type 6 DNA in patients of Public Independent Central Hospital in Warsaw in years 2003-2007]. *Przegl Epidemiol. Poland*; 2009;63(1):35-8.

67. Tong LX, and Worswick SD. Viral infections in acute graft-versus-host disease: a review of diagnostic and therapeutic approaches. *J Am Acad Dermatol. United States*; 2015;72(4):696-702.

68. Khare MD. Human herpesvirus 6: its impact and influence on infectious diseases and their management. *Expert Opin Pharmacother* 2001;2:213-21.

69. Drago F, Ciccarese G, and Rebora A. Distinguishing the status of human herpesvirus 6 and 7 infection. *Int J Dermatol* 2015;54:365-6.

70. Isolation of a new herpesvirus from human CD4⁺ T cells (human herpesvirus 7:virus latency:T-celi activation).pdf. Isolation of a new herpesvirus from human CD4⁺ T cells (human herpesvirus 7:virus latency:T-celi activation).pdf.

71. Donaldson CD, Clark DA, Kidd IM, Breuer J, and Depledge DD. Genome Sequence of Human Herpesvirus 7 Strain UCL-1. *Genome Announc. United States*; 2013;1(5).

72. Luppi M, Barozzi P, Schulz TF, Setti G, Staskus K, Trovato R, and et al. Bone marrow failure associated with human herpesvirus 8 infection after transplantation. *N Engl J Med* 2000;343:1378-85.

73. Documento de consenso sobre prevención de herpes zóster y neuralgia postherpética. *ConsensoHerpesZoster.pdf*.

74. Use of an inactivated varicella vaccine in recipients of hematopoietic-

- cell transplants. *N Engl J Med*. 2002;347:26-34.
75. Weedon D, and Strutton G. Enfermedades virales. In *Piel patología*. Madrid: Marbán; 2002.
76. Cavazzana-Calvo M, Durandy A, and Le Deist F. Déficit de l'immunité antivirale: EBV, CMV, adénovirus. *Hematol Cell Ther* 1997; 39:269-73.
77. Infections and immunodeficiency in bone marrow transplantation.pdf. [Infections and immunodeficiency in bone marrow transplantation.pdf](#).
78. Appleton AL, and Sviland L. Pathogenesis of GVHD: role of herpes viruses. *Bone Marrow Transplant* 1993;11:349-55.
79. Boström L, Ringdén O, Gratama JW, Jacobsen N, Prentice HG, Zwaan FE, and Leukemia Working Party of the European Group for Bone Marrow Tansplantation. A role of herpes virus serology for the development of acute graft-versus-host disease. *Bone M Transp* 1990;5:321-326.
80. Wang LR, Dong LJ, Zhang MJ, and Lu DP. Correlations of human herpesvirus 6B and CMV infection with acute GVHD in recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant. England*; 2008;42(10):673-7.
81. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Griffiths M, Sugerman PB, and Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. United States*; 2005;100(1):40-51.
82. Levy M. The combined effect of viruses and drugs in drug-induced diseases. *Med Hypotheses. ENGLAND*; 1984;14(3):293-6.
83. [Journal of Antimicrobial Chemotherapy 198312\(Supplb\)161-7.pdf](#). [Journal of Antimicrobial Chemotherapy 198312\(Supplb\)161-7.pdf](#).
84. [Journal of Medical Virology 1993 Supple 1, 112-117.pdf](#). [Journal of](#)

Medical Virology 1993 Supple 1, 112-117.pdf.

85. Acyclovir prophylaxis in bone marrow transplant recipients. *Scand J Infect Dis* 1985;47:137-44.

86. Sasidharanpillai S, Riyaz N, Khader A, Rajan U, Binitha MP, and Arunkumar G. Study on reactivation of herpes family of viruses in cutaneous adverse drug reactions. Study on reactivation of herpes family of viruses in cutaneous adverse drug reactions.

87. Natkunarajah J, Watson K, Diaz-Cano S, Mufti G, du Vivier A, and Creamer D. Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms and graft-versus-host disease developing sequentially in a patient. *Clin Exp Dermatol*. England; 2009;34(2):199-201.

88. Draz N, Datta S, Webster DP, and Cropley I. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome secondary to antituberculosis drugs and associated with human herpes virus-7 (HHV-7). *BMJ Case Rep* 2013;31:1-3.

89. Shiohara T, and Kano Y. A complex interaction between drug allergy and viral infection. *Clin Rev Allergy Immunol*. United States; 2007;33(1-2):124-33.

90. Bircher AJ, and Scherer Hofmeier K. Drug Hypersensitivity Reactions during Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Curr Probl Dermatol* 2012;43:150-164.

91. Byun HJ, Yang JI, Kim BK, and Cho KH. Clinical differentiation of acute cutaneous graft-versus-host disease from drug hypersensitivity reactions. *J Am Acad Dermatol*. United States; 2011;65(4):726-32.

92. Marra DE, McKee PH, and Nghiem P. Tissue eosinophils and the perils of using skin biopsy specimens to distinguish between drug hypersensitivity and cutaneous graft-versus-host disease. *J Am Acad Dermatol*. United Sta-

tes; 2004;51(4):543-6.

93. Massi D, Franchi A, Pimpinelli N, Laszlo D, Bosi A, and Santucci M. A reappraisal of the histopathologic criteria for the diagnosis of cutaneous allogeneic acute graft-vs-host disease. *Am J Clin Pathol* 1999;112:791-800.

94. Weaver J, and Bergfeld W. Quantitative Analysis of Eosinophils in Acute Graft-Versus-Host Disease Compared With Drug Hypersensitivity Reactions. *Am J Dermatopathol*. 2010 Feb;32:31-4.

95. Rooks. In p. 42.26-42.32.

96. Wolff D, Ayuk F, Elmaagacli A, Bertz H, Lawitschka A, Schleuning M, Meyer RG, Gerbitz A, Hilgendorf I, Hildebrandt GC, Edinger M, Klein S, Halter J, Mousset S, Holler E, and Greinix HT. Current practice in diagnosis and treatment of acute graft-versus-host disease: results from a survey among German-Austrian-Swiss hematopoietic stem cell transplant centers. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2013;19(5):767-76.

97. ManualCLARTENTHERPEXV2SCcastellanomayo2010_000.pdf. ManualCLARTENTHERPEXV2SCcastellanomayo2010_000.pdf.

98. Oken MM, Creech RH, Torney DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, and al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 5:649-655, 1982.

99. Martin PJ, and Nash RA. Pitfalls in the design of clinical trials for prevention or treatment of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2006;12(1 Suppl 2):31-6.

100. Kohler S, Hendrickson MR, Chao NJ, and Smoller BR. Value of skin biopsies in assessing prognosis and progression of acute graft-versus-host disease. *Am J Surg Pathol*. 1997;21:988-96.

101. Lack of specificity in skin biopsy specimens to assess for acute graft-versus-host disease in initial 3 weeks after bone-marrow transplanta-

tion.pdf. Lack of specificity in skin biopsy specimens to assess for acute graft-versus-host disease in initial 3 weeks after bone-marrow transplantation.pdf.

102. Paun O, Phillips T, Fu P, Novoa RA, Honda KS, Lu KQ, and Lazarus HM. Cutaneous complications in hematopoietic cell transplant recipients: impact of biopsy on patient management. *Biol Blood Marrow Transplant.* United States; 2013;19(8):1204-9.

103. Massi D, Fondi C, Nozzoli C, Benemei S, Lapi F, Albarello L, Avellini C, Bonoldi E, Casini M, Cesinaro AM, Ciceri F, Colombetti V, Comin CE, Donelli A, Fortunato M, Fratoni S, Guidi S, Messerini L, Milone G, Rapezzi D, Negri G, Patriarca F, Peccatori FA, Ponzoni M, Rafaniello P, Raimondi R, Salomone E, Tendas A, Villari L, Santucci M, and Bosi A. The impact of histopathologic examination of graft-versus-host disease in the era of reduced-intensity conditioning regimen: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo. *Hum Pathol.* United States; 2011;42(2):254-68.

104. Hillen U, Häusermann P, Massi D, Janin A, Wolff D, Lawitschka A, Greinix H, Meyer R, and Ziemer M. 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. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* England; 2015;29(5):948-54.

105. Vassallo C, Brazzelli V, Alessandrino PE, Varettoni M, Ardigò M, Lazarino M, and Borroni G. Normal-looking skin in oncohaematological patients after allogenic bone marrow transplantation is not normal. *Br J Dermatol.* England; 2004;151(3):579-86.

106. Nguyen J, Tetzlaff MT, Zhang PJ, Xu X, Hexner E, and Rosenbach M. Fluorescent in situ hybridization of a skin biopsy: an adjunctive tool to support a diagnosis of graft-versus-host disease. *J Am Acad Dermatol.* United

States; 2011. p. e113-4.

107. Anderson KC, Soiffer R, DeLage R, Takvorian T, Freedman AS, Rabinowe SL, and et al. T-cell-depleted autologous bone marrow transplantation therapy: analysis of immune deficiency and late complications. *Blood* 1990; 76,235-44.

108. Pérez-Simón JA, Afram G, Martino R, Piñana JL, Caballero-Velazquez T, Ringden O, Valcarcel D, Caballero D, Remberger M, de Paz Y, Sierra J, Miguel JS, and Hagglund H. Evaluation of prognostic factors among patients with chronic graft-versus-host disease. *Haematologica*. Italy; 2012;97(8):1187-95.

109. Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, Wagner JE, Zhang MJ, Champlin RE, and al. Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med*. 2004;351:2265-75.

110. Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F, Kiani A, Hildebrandt GC, Vogelsang GB, Elad S, Lawitschka A, Socie G, Pavletic SZ, Holler E, and Greinix H. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment of chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2010;16(12):1611-28.

111. Akpek G. Development of a prognostic model for grading chronic graft-versus-host disease. *Blood*. American Society of Hematology; 2001;97(5):1219-1226.

112. Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, and Suzuki R. Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy: an analysis from the GVHD Working Group of the

Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. United States; 2013;19(8):1183-9.

113. Winston DJ, Ho WG, Gale RP, and Champlin RE. Prophylaxis of infection on bone marrow transplants. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988;24:S15-23.

114. Cone RW, Huang ML, Corey L, Zeh J, Ashley R, and Bowden R. Human Herpesvirus 6 Infections after Bone Marrow Transplantation- Clinical and Virologic Manifestations. *J. Infect Dis*. 1999;179:311-8.

115. Mousset S, Martin H, Berger A, Heß S, Bug G, Kriener S, Engels K, Hoelzer D, and Klein SA. Human herpesvirus 6 in biopsies from patients with gastrointestinal symptoms after allogeneic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. Germany; 2012;91(5):737-42.

116. Finny GJ, Mathews V, Abraham P, Abraham M, Chandy M, Srivastava A, and et al.. A pilot study on the role of cytomegalovirus & human herpesvirus-6 infections in Indian bone marrow transplant recipients. *Indian J Med Res* 114, 39-46.

117. 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, and Nishiyama Y. Correlation between HHV-6 infection and skin rash after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. England; 2001;28(1):77-81.

118. Horn TD, Farmer ER, Vogelsang GB, Wingard JR, and Santos GW. Cutaneous graft-versus-host reaction lacks evidence of cutaneous cytomegalovirus by the immunoperoxidase technique. *J Invest Dermatol* 1989;93:92-5.

119. Liu YC, Lu PL, Hsiao HH, Chang CS, Liu TC, Yang WC, and Lin SF. Cytomegalovirus infection and disease after allogeneic hematopoietic stem

cell transplantation: experience in a center with a high seroprevalence of both CMV and hepatitis B virus. *Ann Hematol. Germany*; 2012;91(4):587-95.

120. de Pagter PJ, Schuurman R, Visscher H, de Vos M, Bierings M, van Loon AM, Uiterwaal CS, van Baarle D, Sanders EA, and Boelens J. Human herpes virus 6 plasma DNA positivity after hematopoietic stem cell transplantation in children: an important risk factor for clinical outcome. *Biol Blood Marrow Transplant. United States*; 2008;14(7):831-9.

121. Fernand JP, Gozlan J, Bendelac A, Delauche-Cavallier M, Brouet J, and Morinet F. Detection of Epstein-Barr virus in epidermal skin lesions of an immunocompromised patient. *Annals of internal Medicine* 1990;112:511-515.

122. Appleton AL, Sviland L, Peiris JS, Taylor CE, Wilkes J, Green MA, Pearson AD, Kelly PJ, Malcolm AJ, and Proctor SJ. Human herpes virus-6 infection in marrow graft recipients: role in pathogenesis of graft-versus-host disease. Newcastle upon Tyne Bone Marrow Transport Group. *Bone Marrow Transplant. ENGLAND*; 1995;16(6):777-82.

123. Ljungman P. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: viral status. *Best Pract Res Clin Haematol. England*; 2007;20(2):209-17.

124. Fukuno K, Tomonari A, Takahashi S, Ooi J, Takasugi K, Tsukada N, Konuma T, Iseki T, Moriwaki H, Tojo A, and Asano S. Varicella-zoster virus encephalitis in a patient undergoing unrelated cord blood transplantation for myelodysplastic syndrome-overt leukemia. *Int J Hematol. United States*; 2006;84(1):79-82.

125. Palacios-Alvarez I, Santos-Briz A, Jorge-Finnigan C, Cañueto J, Fernandez-López E, and Roman-Curto C. Chronic cutaneous lichenoid graft-

versus-host disease at the area of herpes zoster infection and at a vaccination site. *Br J Dermatol.* England; 2015;173(4):1050-3.

126. Kawano N, Gondo H, Kamimura T, Aoki K, Iino T, Ishikawa F, Miyamoto T, Nagafuji K, Shimoda K, Hayashi S, Otsuka T, Kazuyama Y, and Harada M. Chronic graft-versus-host disease following varicella-zoster virus infection in allogeneic stem cell transplant recipients. *Int J Hematol.* Ireland; 2003;78(4):370-3.

127. Auger S, Orsini M, C aballos P, Fegueux N, Kanouni T, Caumes B, Klein B, Villalba M, and Rossi JF. Controlled Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic transplantation is associated with improved survival. *Eur J Haematol.* England; 2014;92(5):421-8.

128. Yoshikawa T. Significance of human herpesviruses to transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis.* United States; 2003;16(6):601-6.

129. Zallio F, Primon V, Tamiazzo S, Pini M, Baraldi A, Corsetti MT, Gotta F, Bertassello C, Salvi F, Rocchetti A, and Levis A. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation. *Clin Transplant.* Denmark; 2013;27(4):E491-7.

130. Park M, Lee YH, Lee SH, Yoo KH, Sung KW, Koo HH, Lee JW, Kang HJ, Park KD, Shin HY, Ahn HS, Lee JW, Chung NG, Cho B, Kim HK, Koh KN, Im HJ, Seo JJ, Baek HJ, Kook H, Hwang TJ, Lee JM, Hah JO, Lim YJ, Park JE, Lyu CJ, Lim YT, Chong SY, Oh D, and Cord Blood Transplantation Working Party of the Korean Society of Hematology. Cytomegalovirus infection in seropositive unrelated cord blood recipients: a study of 349 Korean patients. *Ann Hematol.* Germany; 2015;94(3):481-9.

131. Nauc ler CS, Larsson S, and M oller E. A novel mechanism for virus-induced autoimmunity in humans. *Immunol Rev.* DENMARK; 1996;152:175-92.

132. Busca A, Passera R, Pini M, Zallio F, Dellacasa C, Audisio E, Giaccone L, Maffini E, Costa C, Cavallo R, and Bruno B. The use of ATG abrogates the antileukemic effect of cytomegalovirus reactivation in patients with acute myeloid leukemia receiving grafts from unrelated donors. *Am J Hematol.* United States; 2015;90(6):E117-21.
133. Walker CM, van Burik JA, De For TE, and Weisdorf DJ. Cytomegalovirus infection after allogeneic transplantation: comparison of cord blood with peripheral blood and marrow graft sources. *Biol Blood Marrow Transplant.* United States; 2007;13(9):1106-15.
134. Raanani P, Gafter-Gvili A, Paul M, Ben-Bassat I, Leibovici L, and Shpilberg O. Immunoglobulin prophylaxis in hematopoietic stem cell transplantation: systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol.* United States; 2009;27(5):770-81.
135. Meisel R, Heseler K, Nau J, Schmidt SK, Leineweber M, Pudelko S, Wenning J, Zimmermann A, Hengel H, Sinzger C, Degistirici Ö, Sorg RV, and Däubener W. Cytomegalovirus infection impairs immunosuppressive and antimicrobial effector functions of human multipotent mesenchymal stromal cells. *Mediators Inflamm.* United States; 2014;2014:898630.
136. Jaskula E, Dlubek D, Tarnowska A, Lange J, Mordak-Domagala M, Suchnicki K, Sedzimirska M, Borowik A, Mizia S, and Lange A. Anti-CMV-IgG positivity of donors is beneficial for alloHSCT recipients with respect to the better short-term immunological recovery and high level of CD4+CD25high lymphocytes. *Viruses.* Switzerland; 2015;7(3):1391-408.
137. de Pagter PJ, Schuurman R, Keukens L, Schutten M, Cornelissen JJ, van Baarle D, Fries E, Sanders EA, Minnema MC, van der Holt BR, Meijer E, and Boelens JJ. Human herpes virus 6 reactivation: important predictor for poor outcome after myeloablative, but not non-myeloablative allo-SCT.

Bone Marrow Transplant. England; 2013;48(11):1460-4.

138. Hentrich M, Oruzio D, Jäger G, Schlemmer M, Schleuning M, Schiel X, Hiddemann W, and Kolb HJ. Impact of human herpesvirus-6 after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* England; 2005;128(1):66-72.

139. Verhoeven DH, Claas EC, Jol-van der Zijde CM, Thijssen JC, Lankester AC, Bredius RG, Putter H, Kroes AC, Egeler RM, Schilham MW, and van Tol MJ. Reactivation of Human Herpes Virus-6 After Pediatric Stem Cell Transplantation: Risk Factors, Onset, Clinical Symptoms and Association With Severity of Acute Graft-Versus-Host Disease. *Pediatr Infect Dis J.* United States; 2015;34(10):1118-27.

140. Kitamura K, Asada H, Iida H, Fukumoto T, Kobayashi N, Niizeki H, Morii T, Kimura H, and Miyagawa S. Relationship among human herpesvirus 6 reactivation, serum interleukin 10 levels, and rash/graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *J Am Acad Dermatol.* United States; 2008;58(5):802-9.

141. Jeulin H, Agrinier N, Guery M, Salmon A, Clément L, Bordigoni P, and Venard V. Human herpesvirus 6 infection after allogeneic stem cell transplantation: incidence, outcome, and factors associated with HHV-6 reactivation. *Transplantation.* United States; 2013;95(10):1292-8.

142. Tomonari A, Takahashi S, Ooi J, Iseki T, Takasugi K, Uchiyama M, Konuma T, Futami M, Ohno N, Uchimaruk K, Tojo A, and Asano S. Human herpesvirus 6 variant B infection in adult patients after unrelated cord blood transplantation. *Int J Hematol.* United States; 2005;81(4):352-5.

143. Dzieciatkowski T, Przybylski M, Torosian T, Tomaszewska A, and Luczak M. Prevalence of human herpesvirus 6 antibodies and DNA in allogeneic stem cell transplant patients: two-year single centre experience. *Arch*

Immunol Ther Exp (Warsz). Switzerland; 2008;56(3):201-6.

144. Fujimaki K, Mori T, Kida A, Tanaka M, Kawai N, Matsushima T, Kishi K, Fujisawa S, Sakura T, Yokota A, Kanda Y, Taguchi J, Akiyama H, Kanamori H, Maruta A, Okamoto S, and Sakamaki H. Human herpesvirus 6 meningoencephalitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Int J Hematol*. United States; 2006;84(5):432-7.

145. Yoshikawa T. Human herpesvirus 6 infection in hematopoietic stem cell transplant patients. *British Journal of Haematology*. 2004;124(4):421-432.

146. Fontan J, Mouglin C, and Cahn JY. L'herpesvirus humain 6: données générales et infections en transplantation d'organes et greffe de cellules souches hématopoïétiques. *Presse Med* 1999; 28,149-56.

147. Dockrell DH, and Paya CV. Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Rev Med Virol*. 2001;11:23-16.

148. Wolz MM, Sciallis GF, and Pittelkow MR. Human Herpesviruses 6, 7, and 8 From a Dermatologic Perspective. *Mayo Clin Proc*. 2012;87:1004-1014.

149. Morales-Sánchez A, Pompa-Mera EN, Fajardo-Gutiérrez A, Alvarez-Rodríguez FJ, Bekker-Méndez VC, Flores-Chapa Jde D, Flores-Lujano J, Jiménez-Hernández E, Peñaloza-González JG, Rodríguez-Zepeda MC, Torres-Nava JR, Velázquez-Aviña MM, Amador-Sánchez R, Alvarado-Ibarra M, Reyes-Zepeda N, Espinosa-Elizondo RM, Pérez-Saldivar ML, Núñez-Enríquez JC, Mejía-Arangur JM, and Fuentes-Pananá EM. EBV, HCMV, HHV6, and HHV7 screening in bone marrow samples from children with acute lymphoblastic leukemia. *Biomed Res Int*. United States; 2014;2014:548097.

150. Ballester-Sánchez R, Navarro-Mira M, Sanz-Caballer J, and Botella-

Estrada R. Review of Cutaneous Graft-vs-Host Disease. *Actas Dermosifiliogr.* 2015;.

151. Wu PA, and Cowen EW. Cutaneous graft-versus-host disease –clinical considerations and management. *Curr Probl Dermatol* 2012;43:101-115.

152. Jang JE, Kim SJ, Cheong JW, Hyun SY, Kim YD, Kim YR, Kim JS, and Min YH. Early CMV replication and subsequent chronic GVHD have a significant anti-leukemic effect after allogeneic HSCT in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol. Germany;* 2015;94(2):275-82.

153. Chae YS, Sohn SK, Kim JG, Cho YY, Moon JH, Yang DH, Lee JJ, Kim YK, Kim HJ, Shin HJ, Chung JS, and Cho GJ. Impact of alemtuzumab as conditioning regimen component on transplantation outcomes in case of CMV-seropositive recipients and donors. *Am J Hematol. United States;* 2008;83(8):649-53.

154. Anasetti C, Beatty PG, Storb R, Martin PJ, Mori M, Sanders JE, and et al. Effect of HLA Incompatibility on Graft-versus-Host Disease, Relapse, and Survival after Marrow Transplantation for Patients with Leukemia or Lymphoma. *Human Immun.* 1990;29:79,91.

155. Goulmy E, Schipper R, Pool J, Blokland E, Falkenburg JH, Vossen J, and al. Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1996;334:281-5.

156. Parody R, Lopez-Corral L, Godino OL, Cadenas IG, Martinez AP, Vazquez L, Martino R, Martinez C, Solano C, Barba P, Valcarcel D, Caballero-Velazquez T, Marquez-Malaver FJ, Sierra J, Caballero D, and Perez-Simón JA. GVHD prophylaxis with sirolimus-tacrolimus may overcome the deleterious effect on survival of HLA mismatch after reduced-intensity conditioning allo-SCT. *Bone Marrow Transplant. England;* 2015;50(1):121-6.

157. Baron F, Labopin M, Ruggeri A, Mohty M, Sanz G, Milpied N, Bacigalupo A, Rambaldi A, Bonifazi F, Bosi A, Sierra J, Yakoub-Agha I, Santasusana JM, Gluckman E, and Nagler A. Unrelated cord blood transplantation for adult patients with acute myeloid leukemia: higher incidence of acute graft-versus-host disease and lower survival in male patients transplanted with female unrelated cord blood--a report from Eurocord, the Acute Leukemia Working Party, and the Cord Blood Committee of the Cellular Therapy and Immunobiology Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Hematol Oncol*. England; 2015;8(1):107.
158. Joseph R, Shvartsbeyn M, Günay C, Akpek G, and Aurelian L. Acute skin graft-versus-host disease with molecular features mimicking herpes simplex virus-associated erythema multiforme: report of three cases. *Dermatology*. Switzerland; 2014;228(2):125-9.
159. Rowntree LC, Nguyen TH, Gras S, Kotsimbos TC, and Mifsud NA. Deciphering the clinical relevance of allo-human leukocyte antigen cross-reactivity in mediating alloimmunity following transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;.
160. Maecker-Kolhoff B, and Eiz-Vesper B. Broad spectrum antiviral T cells for viral complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Transl Med*. China; 2015;3(Suppl 1):S4.
161. Aubin F, Cahn JY, Ferrand C, Angonin R, Humbert P, and Tiberghien P. Extensive vitiligo after ganciclovir treatment of GvHD in a patient who had received donor T cells expressing herpes simplex virus thymidine kinase. *Lancet*. ENGLAND; 2000. p. 626-7.
162. Maily L, Leboeuf C, Tiberghien P, Baumert T, and Robinet E. Genetically engineered T-cells expressing a ganciclovir-sensitive HSV-tk suicide

gene for the prevention of GvHD. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2010;11:559-570.

163. Xu K, Zhu F, Du B, Gao F, Cheng H, and Pan X. Prophylaxis of graft-versus-host disease by lentiviral-mediated expression of herpes simplex virus-thymidine kinase and ganciclovir treatment. *Transplant Proc. United States*; 2008;40(8):2665-9.

164. Burger SR, Kadidlo DM, Basso L, Bostrom N, and Orchard PJ. Cellular engineering of HSV-tk transduced, expanded T lymphocytes for graft-versus-host disease management. *Acta Haematol. Switzerland*; 2003;110(2-3):121-31.

165. Jaskula E, Lange A, Kyrzcz-Krzemien S, Markiewicz M, Dzierzak-Mietla M, Jedrzejczak WW, Czajka P, Mordak-Domagala M, Lange J, Gronkowska A, Nowak J, Warzocha K, Hellmann A, Kowalczyk J, Drabko K, Gozdzik J, Mizia S, and Polish Donor-Recipient Matching Group. NOD2/CARD15 single nucleotide polymorphism 13 (3020insC) is associated with risk of sepsis and single nucleotide polymorphism 8 (2104C>T) with herpes viruses reactivation in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant. United States*; 2014;20(3):409-14.

166. Menger L, Gouble A, Marzolini MAV, Pachnio A, Bergerhoff K, Henry JY, Smith J, Pule M, Moss P, Riddell SR, Quezada SA, and Peggs KS. TALEN-mediated genetic inactivation of the glucocorticoid receptor in cytomegalovirus-specific T cells. *Blood. American Society of Hematology*; 2015;126(26):2781-2789.

XI. ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

Ag pp65: antígeno p65 del CMV.

ARN: ácido ribonucleico

AT: array tube: tubo de procesamiento

ATG: antitimoglobulina ó globulina antitimocítica.

CAR (clinical array reader): lector de las placas CS

CMH: complejo mayor de histocompatibilidad

CMV: citomegalovirus ó HVH tipo 5

CPA: células presentadoras de antígenos

CS (cart strip): plataforma de pocillos

CSPA: ciclosporina

CU: cordón umbilical.

día +cifra: indica cuántos días han transcurrido desde que se realizó el trasplante.

D: donante.

DNE: donante no emparentado

EBNA: antígeno nuclear del VEB

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.

EICH: enfermedad de injerto contra huésped.

EICHa: enfermedad de injerto contra huésped aguda

EICHc: enfermedad de injerto contra huésped crónica

H: hombre

HLA (human leukocyte antigen): antígeno leucocitario humano.
HVH: herpes virus humano
HVS: herpes virus simple o tipo I
ICL: injerto contra leucemia
IgG: inmunoglobulina G
IgM: inmunoglobulina M
IL: interleukina
L: linfoma
LA: leucemia aguda
LH: linfoma de Hodgkin
LNH: linfoma no Hodgkin
mHA: antígenos menores de histocompatibilidad
M: mujer
MM: mieloma múltiple
MTX: metotrexato
PCR: reacción en cadena de la polimerasa
PH: progenitores o precursores hematopoyéticos.
PHCU: progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical.
PHMO: progenitores hematopoyéticos de médula ósea.
PHSP: progenitores hematopoyéticos de sangre periférica.
PNT: protocolo normalizado de trabajo.
R: receptor.
RAPA: rapamicina
RCAM: reacción cutánea adversa a medicamentos.
RCT: radioterapia corporal total.
RLT: receptor de linfocitos-T
SNP: sistema nervioso periférico

TACRO: tacrolimus

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.

TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

UI: unidades internacionales

VEB: virus de Epstein Barr o HVH tipo 4

VHS: virus herpes simple o HVH tipo I

VVZ: virus varicela-zóster o HVH tipo 3

