



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

**CÉLULAS *STEM* MESENQUIMALES EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE
PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS:
ANÁLISIS DE LA EXPERIENCIA CLÍNICA DE LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN
CELULAR DEL COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA
(2009-2018)**

Directores

Dr. Fermín Sánchez-Guijo Martín

Dra. Eva María Villarón Ríos



Álvaro Veiga Vaz

Salamanca, 2020



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

D. Fermín Sánchez-Guijo Martín

Profesor Asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca (USAL) y responsable del Área de Terapia Celular del Servicio de Hematología del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA).

Certifico:

Que el presente trabajo titulado “Células *Stem* Mesenquimales en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos: análisis de la experiencia clínica de la Unidad de Producción Celular del Hospital Universitario de Salamanca (2009-2018)”, realizado por D. Álvaro Veiga Vaz, bajo mi dirección reúne, a mi juicio, las condiciones de originalidad requeridas para optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, firmo la siguiente certificación en Salamanca, a 26 de noviembre de 2020.

Firmado: Dr. Fermín Sánchez-Guijo Martin



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

D^ª. Eva María Villarón Ríos

Investigadora postdoctoral del Área de Terapia Celular del Servicio de Hematología del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA).

Certifico:

Que el presente trabajo titulado “Células *Stem* Mesenquimales en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos: análisis de la experiencia clínica de la Unidad de Producción Celular del Hospital Universitario de Salamanca (2009-2018)”, realizado por D. Álvaro Veiga Vaz, bajo mi dirección reúne, a mi juicio, las condiciones de originalidad requeridas para optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, firmo la siguiente certificación en Salamanca, a 26 de noviembre de 2020.

Firmado: Dra. Eva María Villarón Ríos

*“Twenty years from now you will be more disappointed by
the things that you didn't do than by the ones you did do”*

Mark Twain
(1835-1910)

AGRADECIMIENTOS

Resulta difícil mencionar en pocas líneas a todas las personas, que, de una forma u otra, han contribuido a la realización de este trabajo. Cada una de ellas ha aportado su granito de arena en formas diversas, enseñanzas, motivación, apoyo, dedicación.

Al Dr. Fermín Sánchez-Guijo por su paciencia y dedicación constante. Gracias por darme esta oportunidad, por la confianza depositada en todo momento. Me abriste de par en par las puertas del mundo de la investigación, me acogiste, y me guiaste en este apasionante viaje.

A la Dra. Eva Villarón por sus enseñanzas en el campo de la terapia celular. Siempre has estado disponible a invertir cualquier instante de tiempo para dedicármelo, para resolver mis dudas, para apoyarme y motivarme.

A la Dra. Miriam López-Parra, más que un apoyo, el poder compartir tiempo y trabajo con una amiga. Si se presentaba una duda estabas ahí, si necesitaba un consejo volvías a estar, si precisaba ánimos en momentos bajos siempre aparecías. Mil gracias.

A la Dra. Dolores Caballero por sus enseñanzas en el mundo del trasplante. Contigo a la cabeza de un gran equipo de personas, que de cada cual, por su dedicación y entrega he aprendido y he mejorado.

A la Dra. Consuelo del Cañizo y al Dr. Marcos González que han liderado durante mis años en Salamanca a todo el equipo de Hematología. Me brindasteis la oportunidad de dar mis primeros pasos como hematólogo, me guiasteis en el camino de la mejor forma posible, y habéis logrado gracias a vuestro trabajo, esfuerzo y paciencia que hoy sea el especialista que soy.

A mis compañeras de viaje hematológico en Salamanca, Mónica y Nerea. No es sencillo describir con palabras lo que habéis sido para mí esos cuatro años, lo sabéis, no os lo describo, me seguiréis sufriendo siempre.

A mi Familia Salmantina, que siempre habéis estado ahí, en los buenos y malos momentos, a la hora de ahogar penas o compartir alegrías. A todos, y cada uno de vosotros mil gracias.

A la Dra. Teresa Molero y a todo el equipo de Hematología del Hospital Dr. Negrín de Gran Canaria. Me ofrecisteis la posibilidad de continuar mi viaje con vosotros, con los brazos abiertos, y siempre con la mano tendida a ayudar en lo que uno necesitase. Mejoro con vosotros día a día.

Al Dr. Carlos Rodríguez, al cual considero un modelo en el cual reflejarme para seguir mejorando, pero que jamás se lo diré. Un placer poder trabajar cada día a su lado, y seguir creciendo.

A María Cortés, gracias por invertir tu tiempo, siempre a disposición, para aprender con tus lecciones magistrales de estadística. Con tu gran ayuda hemos podido mejorar increíblemente este trabajo.

A mis principales pilares a lo largo de todos estos años, sois una parte imprescindible. Vuestro apoyo incondicional, vuestros consejos, vuestro cariño, vuestra amistad. Samy, Kike, Telenti, Dani, Pablo, Nacho, Pelayo, Pollo, Valle, Pablo, Adrián, Joan y Marcos. Me quedo sin palabras de agradecimiento hacia vosotros.

A ti May, por acompañarme, animarme, mimarme y cuidarme en cada uno de los días. Por el tiempo que este trabajo nos impidió pasar juntos, pero ya se acabó, y ahora esos momentos son para ti.

A mis padres, a mis hermanos, a toda mi familia, que somos unos cuantos. Muchas gracias por la educación que he recibido, de enseñarme a esforzarme, a trabajar duro para lograr lo que te propongas, al cariño recibido y el que recibiré. Este trabajo también es un logro vuestro. Estemos orgullosos juntos.

ABREVIATURAS

AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
Alo-TPH	Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
Auto-TPH	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos
AIR	Acondicionamiento de intensidad reducida
AMA	Acondicionamiento mieloablativo
ATG	Globulina antitimocítica
BAFF	Factor activador de célula B (del inglés <i>B-cell activating factor</i>)
BCR	Receptor de célula B (del inglés <i>B cell receptor</i>)
BO	Bronquiolitis obliterante
CAUSA	Complejo Asistencial Universitario de Salamanca
CD	Antígenos de diferenciación (del inglés <i>Cluster of Differentiation</i>)
CE	Corticoesteroides
CFU-F	Unidades formadoras de colonias fibroblásticas
CMN	Células mononucleadas
CMV	Citomegalovirus
CPA	Células presentadoras de antígenos
CsA	Ciclosporina
MSC	Células <i>stem</i> mesenquimales (del inglés <i>Mesenchymal Stem Cells</i>)
Cy	Ciclofosfamida
DAMPs	Patrones moleculares asociados a daño (del inglés <i>damage-associated molecular patterns</i>)
DE	Donante emparentado
DMSO	Dimetil sulfóxido
DnE	Donante no emparentado
EBMT	<i>European Group for Blood and Marrow Transplantation</i>
EICR	Enfermedad injerto contra receptor
EPO	Eritropoyetina
FAE	Fotoaféresis extracorpórea
G-CSF	Factor estimulante de colonias granulocíticas

GI	Gastrointestinal
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de macrófagos
GMP	Normas de correcta fabricación (del inglés <i>Good Manufacturing Practice</i>)
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
HLA	Antígenos leucocitarios humanos (del inglés <i>Human Leukocyte Antigen</i>)
IBMTR	<i>International Blood and Marrow Transplant Research</i>
ICT	Irradiación corporal total
IDO	Indoleamina dioxigenasa
IFN	Interferón
Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleucina
ILD	Infusión de linfocitos del donante
IMC	Índice de masa corporal
IS	Inmunosupresor
ISCT	<i>International Society for Cellular Therapy</i>
JAK	Janus quinasa
LB	Linfocitos B
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LLC	Leucemia linfática crónica
LMA	Leucemia mieloblástica aguda
LMC	Leucemia mieloide crónica
LNH	Linfoma no Hodgkin
LT	Linfocitos T
MEM	Medio mínimo esencial (del inglés <i>Minimum Essential Medium</i>)
MMF	Micofenolato mofetilo
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero (del inglés <i>mammalian target of rapamycin</i>)
MO	Médula ósea
MTX	Metotrexate
NK	<i>Natural Killer</i>

NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NOD-R	Dominio de oligomerización por unión de nucleótidos (del inglés <i>nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors</i>)
ONT	Organización Nacional de Trasplantes
RC	Respuesta (s) completa (s)
RG	Respuesta (s) global (es)
RP	Respuesta (s) parcial (es)
PAMPs	Patrones moleculares asociados a patógenos (del inglés <i>pathogen-associated molecular patterns</i>)
PD	Ligando de muerte programada (del inglés <i>Programmed Death</i>)
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PEI	Producto en investigación
PGE	Prostaglandina
SCU	Sangre de cordón umbilical
SG	Supervivencia global
SMD	Síndrome mielodisplásico
SP	Sangre periférica
Sv	Supervivencia
TCR	Receptor de célula T (del inglés <i>T-Cell Receptor</i>)
TGF	Factor de crecimiento transformante
Th	Linfocito T <i>helper</i>
TNF	Factor de necrosis tumoral
TPO	Análogo del receptor de la trombopoyetina
Treg	Linfocitos T reguladores
UPC	Unidad de Producción Celular
USAL	Universidad de Salamanca

LISTA DE TABLAS

- | | |
|-----------|---|
| Tabla 1. | Avances en el trasplante a lo largo de los años. |
| Tabla 2. | Características de la EICR en aguda y crónica. |
| Tabla 3. | Gradación de la afectación por órganos de la EICR aguda. |
| Tabla 4. | Gradación de la afectación global de la EICR aguda. Glucksberg 1974. Modificación de 1995. |
| Tabla 5. | Gradación de la afectación global de la EICR aguda: International Blood and Marrow Transplant 1997. |
| Tabla 6. | Gradación clásica de la EICR crónica. |
| Tabla 7. | Criterios diagnósticos: síntomas y signos de la EICR crónica. |
| Tabla 8. | Valoración de la gravedad de la EICR crónica por órganos. |
| Tabla 9. | Estudios del uso de MSC en EICR aguda refractaria. |
| Tabla 10. | Características biométricas de los donantes en función del sexo. |
| Tabla 11. | Características de los sucesivos pases de cultivo. |
| Tabla 12. | MSC obtenidas en los sucesivos pases de cultivo. |
| Tabla 13. | MSC criopreservadas en cada pase de cultivo. |
| Tabla 14. | Influencia de las características de los donantes en la producción celular: cultivo inicial. |
| Tabla 15. | Influencia de las características de los donantes en la producción celular: primer pase de cultivo. |
| Tabla 16. | Influencia de las características de los donantes en la producción celular: segundo pase de cultivo. |
| Tabla 17. | Influencia de las características de los donantes en la producción celular: tercer pase de cultivo. |
| Tabla 18. | Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en la EICR aguda. |
| Tabla 19. | Características clínicas del episodio de la EICR aguda de los pacientes tratados con MSC. |
| Tabla 20. | Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta a las MSC en la EICR aguda. |
| Tabla 21. | Característica del episodio de la EICR aguda de la segunda tanda con MSC. |
| Tabla 22. | Estado del paciente en el último seguimiento en función de la respuesta a las MSC en el día +28 en la EICR aguda. |

- Tabla 23. Supervivencia global en función de la respuesta alcanzada a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.
- Tabla 24. Supervivencia global en función de la respuesta (RC vs no RC) a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.
- Tabla 25. Característica de la enfermedad hematológica que ha recaído tras la infusión con MSC en la EICR aguda.
- Tabla 26. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en la EICR crónica.
- Tabla 27. Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta a las MSC en la EICR crónica.
- Tabla 28. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC a los 90 días en la EICR crónica.
- Tabla 29. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en las citopenias periféricas postrasplante.
- Tabla 30. Evolución de las cifras hemoperiféricas tras la administración de las MSC.
- Tabla 31. Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta a las MSC en las citopenias.
- Tabla 32. Estado del paciente en el último seguimiento en función de la respuesta a las MSC en las citopenias periféricas postrasplante en el día +90.
- Tabla 33. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (respuesta vs no respuesta) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.
- Tabla 34. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (RC vs no RC) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.
- Tabla 35. Episodio de EICR tras la administración de MSC en las citopenias periféricas postrasplante.
- Tabla 36. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en la cistitis hemorrágica.
- Tabla 37. Característica del Alo-TPH en los pacientes pediátricos tratados con MSC en la EICR aguda.
- Tabla 38. Características del episodio de la EICR aguda de los pacientes pediátricos tratados con MSC.
- Tabla 39. Características de un nuevo episodio de la EICR aguda en los pacientes pediátricos tratados previamente con MSC.
- Tabla 40. Estado del paciente pediátrico en el último seguimiento en función de la respuesta a MSC en la EICR aguda en el día +28.

LISTA DE GRÁFICAS

- Gráficas 1 y 2. Trasplantes realizados en España en la última década (Auto-TPH vs Alo-TPH) (DnE vs DE). Adaptación del informe de la ONT 2018.
- Gráfica 3. Fuente de progenitores hematopoyéticos en España en 2018. Adaptación del informe de la ONT 2018.
- Gráfica 4. Distribución de las enfermedades hematológica en los pacientes tratados con MSC en la EICR aguda.
- Gráfica 5. Líneas terapéuticas previas al tratamiento con MSC en la EICR aguda.
- Gráfica 6. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda.
- Gráfica 7. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en función del número de órganos.
- Gráfica 8. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en función del órgano.
- Gráfica 9. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en función del grado de afectación global.
- Gráfica 10. Tasa de respuesta en la EICR aguda en el último seguimiento.
- Gráfica 11. Supervivencia global en función de la respuesta alcanzada a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.
- Gráfica 12. Supervivencia global en función de la respuesta (RC vs no RC) a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.
- Gráfica 13. Motivo de éxitus de los pacientes tratados con MSC en la EICR aguda.
- Gráfica 14. Distribución de las enfermedades hematológica en los pacientes tratados con MSC en la EICR crónica.
- Gráfica 15. Características clínicas de la EICR crónica según el NIH 2014 en los pacientes tratados con MSC.
- Gráfica 16. Líneas terapéuticas para la EICR crónica previas al tratamiento con MSC.
- Gráfica 17. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR crónica a los 90 días.
- Gráfica 18. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR crónica en función del órgano.
- Gráfica 19. Supervivencia global en función de la respuesta alcanzada a las MSC a los 90 días en la EICR crónica.
- Gráfica 20. Distribución de la enfermedad hematológica en los pacientes tratados con MSC en las citopenias periféricas.
- Gráfica 21. Características de la citopenia periférica postrasplante en los pacientes tratados con MSC.

- Gráfica 22. Líneas terapéuticas previas a las MSC en las citopenias periféricas postrasplante.
- Gráfica 23. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en las citopenias periféricas postrasplante en el día +90.
- Gráfica 24. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en las citopenias periféricas postrasplante en el día +90 en función de la línea celular afectada y el número de líneas.
- Gráfica 25. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (respuesta vs no respuesta) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.
- Gráfica 26. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (RC vs no RC) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.
- Gráfica 27. Motivo de éxito de los pacientes tratados con MSC en las citopenias periféricas postrasplante.
- Gráfica 28. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en pacientes pediátricos.
- Gráfica 29. Tasa de respuesta con MSC en la EICR aguda en pacientes pediátricos en función del órgano afectado.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fases de la fisiopatología de la EICR aguda. Adaptación de Ferrara, Lancet (2009).
- Figura 2. Fases de la fisiopatología de la EICR crónica. Adaptación de Cooke, Biol Blood Marrow Transplant (2017).
- Figura 3. Efectos de las MSC sobre el sistema inmune. Adaptación de Cagliari, Stem Cell Regen Biol (2017).

LISTA DE FOTOS

- Foto 1. Evolución de la adherencia al plástico de las MSC durante el cultivo *in vitro*.
- Foto 2. Diferenciación *in vitro* de las MSC a osteoblastos, adipocitos y condrocitos (respectivamente).

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS	3
1.2	RESEÑA HISTÓRICA DEL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO	5
1.3	EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO EN CIFRAS	9
1.4	COMPLICACIONES EN EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO ALOGÉNICO	11
1.4.1	INFECCIONES OPORTUNISTAS	11
1.4.2	ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR	13
1.4.3	FALLO DE INJERTO	32
1.4.4	CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE	34
1.4.5	CISTITIS HEMORRÁGICA	36
1.5	LAS CÉLULAS MESENQUIMALES	37
1.5.1	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LAS MSC	37
1.5.2	PROPIEDADES INMUNO-REGULADORAS DE LAS MSC	38
1.5.3	USOS TERAPÉUTICOS EN HEMATOLOGÍA	42
1.5.4	REGULACIÓN LEGAL DE LA PRODUCCIÓN DE MSC PARA USO CLÍNICO	51
1.5.5	SELECCIÓN DE DONANTES PARA LA PRODUCCIÓN CLÍNICA DE MSC	53
2	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	57
2.1	HIPÓTESIS	59
2.2	OBJETIVOS	60
3	MATERIAL Y MÉTODOS	63
3.1	MATERIAL	65
3.1.1	DONANTES	65
3.1.2	PACIENTES	65
3.2	MÉTODOS	67
3.2.1	CONSULTA DE SELECCIÓN DEL DONANTE	67
3.2.2	EXTRACCIÓN DE MÉDULA ÓSEA	67
3.2.3	PRODUCCIÓN CELULAR	68
3.2.4	PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE LAS MSC	70
3.2.5	ANÁLISIS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	72
3.2.6	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	72
3.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	81
4	RESULTADOS	83
4.1	DONANTES	85
4.1.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS DONANTES	85
4.1.2	EXTRACCIÓN DE MÉDULA ÓSEA	86
4.1.3	PRODUCCIÓN CELULAR	86
4.1.4	FALLOS DE PRODUCCIÓN	95

4.1.5	PRODUCTOS DESECHADOS	95
4.2	ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA	96
4.2.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	96
4.2.2	CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE	97
4.2.3	EPISODIO DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA	98
4.2.4	CARACTERÍSTICAS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC.....	101
4.2.5	RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC.....	101
4.2.6	EVOLUCIÓN DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	110
4.3	ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR CRÓNICA	113
4.3.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	113
4.3.2	CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE	114
4.3.3	EPISODIO DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR CRÓNICA	115
4.3.4	ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	117
4.3.5	RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	118
4.3.6	EVOLUCIÓN DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	123
4.4	CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE	125
4.4.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	125
4.4.2	CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE	126
4.4.3	EPISODIO DE CITOPENIA PERIFÉRICA POSTRASPLANTE.....	127
4.4.4	ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	129
4.4.5	RESULTADOS CON LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC.....	130
4.4.6	EVOLUCIÓN DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	137
4.5	CISTITIS HEMORRÁGICA	141
4.5.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	141
4.5.2	CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE	141
4.5.3	EPISODIO DE CISTITIS HEMORRÁGICA	142
4.5.4	ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	143
4.5.5	RESULTADOS CON LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC.....	144
4.5.6	ESTADO DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC	144
4.6	PACIENTES PEDIÁTRICOS	145
4.6.1	PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EICR AGUDA	145
4.6.2	PACIENTES PEDIÁTRICOS CON CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE.....	152
4.6.3	PACIENTES PEDIÁTRICOS CON CISTITIS HEMORRÁGICA.....	155
5	DISCUSIÓN	159
6	CONCLUSIONES.....	173
7	BIBLIOGRAFÍA.....	179

1 INTRODUCCIÓN

1.1 TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) es un procedimiento utilizado con el objetivo de sustituir el tejido hematopoyético y el sistema inmune de un receptor que presenta una insuficiencia medular, una hemopatía maligna u otras alteraciones del sistema inmune (p. ej. inmunodeficiencias), empleando progenitores de médula ósea (MO), sangre periférica (SP) o cordón umbilical (SCU) de un donante sano, pudiendo ser emparentado (DE) o no emparentado (DnE).

Recientemente se ha publicado la revisión del *European Group for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) sobre las indicaciones para la realización de trasplantes hematopoyéticos en adultos ^[1]. Describiremos en cuáles ha demostrado una superioridad estadísticamente significativa frente a otras estrategias terapéuticas sin trasplante.

La principal indicación del alo-TPH es la leucemia aguda mieloblástica, siendo su realización favorable en las de intermedio y alto riesgo tras alcanzar la primera remisión completa o pacientes del grupo de riesgo favorable que fueron refractarios a un tratamiento de inducción con quimioterapia.

En la leucemia aguda linfoblástica su indicación está establecida en los pacientes que presentan la $t(9;21)$ o en las de alto riesgo en ausencia de esta traslocación, tras alcanzar la primera remisión completa. Así como, pacientes que han recaído tras quimioterapia que logran alcanzar una segunda remisión completa.

En los síndromes mielodisplásicos el Alo-TPH aparece como una buena opción terapéutica si se realiza antes de la progresión de la enfermedad o en remisión completa tras quimioterapia o agentes hipometilantes. La decisión debe tomarse en función del riesgo de la enfermedad, del trasplante y del relacionado con el paciente.

En los pacientes afectos por leucemia mieloide crónica está indicada la realización del trasplante en aquellos que están en fases avanzadas (especialmente crisis blástica) o en fase crónica multirresistente a inhibidores de tirosina quinasa.

En el caso de la leucemia linfática crónica la introducción de fármacos inhibidores de vías de señalización ha cambiado el algoritmo terapéutico, siendo los pacientes candidatos a

Alo-TPH los que no alcanzan respuesta con la quimioterapia estándar, ni a dichos fármacos.

En mielofibrosis primaria se debe valorar el trasplante en los casos con DIPSS de intermedio II o alto riesgo.

Los linfomas tienen la indicación favorable para la realización de un Alo-TPH cuando han padecido una recaída quimiosensible tras un trasplante autólogo (Auto-TPH), aunque la irrupción de las células CAR-T está modificando los algoritmos terapéuticos.

En el mieloma múltiple el Alo-TPH es un tratamiento con potencial curativo, pero se asocia con una considerable mortalidad sin recaída, su uso podría usarse en pacientes seleccionados de alto riesgo, aunque de nuevo los CAR-T y los anticuerpos biespecíficos están modificando los consensos terapéuticos previos.

Una indicación sin discusión es el caso de la aplasia medular grave de nuevo diagnóstico en pacientes jóvenes con donante emparentado HLA-idéntico.

1.2 RESEÑA HISTÓRICA DEL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO

Los orígenes del trasplante se remontan a finales del siglo pasado, cuando Brown-Séguar planteó la posibilidad de reconstituir la producción de la hematopoyesis en casos de anemia con la administración de MO de ternera por vía oral.

Posteriormente, en 1939, Rasjek y Osgood administraron a sus pacientes sangre medular por vía intramedular y endovenosa, respectivamente, para el tratamiento de pacientes con leucemia y aplasia medular secundaria al tratamiento con sales de oro, sin emplear un acondicionamiento previo, procedimientos que no resultaron exitosos [2, 3].

Durante los años 50, tras las explosiones nucleares durante la Segunda Guerra Mundial las investigaciones sobre los efectos de la irradiación en modelos animales se aceleraron, además de analizarse los daños sufridos en la población superviviente a la radiación, que indicaban que el sistema hematopoyético era altamente sensible a la radiación, induciéndose en muchos casos una insuficiencia medular secundaria que era letal en la mayoría de los casos. En 1951, Jacobson demostró que los ratones podían recuperar una hematopoyesis normal y sobrevivir a la irradiación si se les protegía el bazo con una lámina de plomo [4]. En el mismo año, Lorenz consiguió reconstituir la hematopoyesis en modelos murinos sometidos a dosis letales de irradiación, mediante la administración intravenosa de células hematopoyéticas de otro ratón, demostrando así la posibilidad real del trasplante hematopoyético [5]. Más tarde, en 1956, Barnes trató a ratones con leucemia con dosis letales de radiación, infundiéndoles posteriormente células de MO, observando que los que habían recibido células de origen no singénico morían de una afección a la cual llamó “síndrome secundario”, no conocido en ese momento, y que hoy en día conocemos como enfermedad injerto contra receptor (EICR) [6], término que no se acuñó hasta 1965 por Morten Simonsson.

Con dichas bases, en el año 1956 Edward Donnall Thomas realizó en Seattle el primer trasplante de MO entre dos gemelos univitelinos. Posteriormente, en 1957, publicó los resultados de los primeros trasplantes en humanos, en seis pacientes con leucemia aguda, los cuales habían recibido quimioterapia y radiación corporal previamente a la infusión de progenitores de MO [7]. Más tarde, en 1958, Georges Mathé realizó la infusión intravenosa de MO a cinco trabajadores de un instituto de investigación en Vinca

(Yugoslavia), los cuales habían recibido una dosis letal de irradiación tras un accidente nuclear [8].

A lo largo de los años 60 se realizaron más de 200 Alo-TPH de MO sin éxito a largo plazo. En el informe realizado en 1970 por Bortin para la *International Blood and Marrow Transplant Research* (IBMTR) se observaron resultados prometedores en los trasplantes de hermanos con antígenos leucocitarios humanos (HLA) idénticos, los cuales se utilizaron como base para el desarrollo del trasplante [9, 10].

Las aplicaciones en humanos inicialmente fueron un fracaso, ya que se desconocía la importancia de la histocompatibilidad de los HLA entre donante y receptor. En 1954 Miescher y Fauconnet describieron que los anticuerpos inducidos por transfusiones, así como en embarazos, reaccionaban con los antígenos presentes en los leucocitos humanos [11]. Posteriormente, en 1958, Dausset y Van Rood utilizaron dichos conocimientos para describir el primer HLA (actualmente el HLA-A2), y posteriormente describir el sistema HLA en 1967 [12-14], estudios que merecieron el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1980.

Con estos avances, en 1968 y 1969 se efectuaron los que se consideran los primeros Alo-TPH de MO exitosos de la era moderna. El primero fue un paciente afecto de una inmunodeficiencia congénita, y el segundo se trataba de uno afecto por un síndrome de Wiskott Aldrich, ambos recibieron MO de un hermano HLA idéntico [15, 16].

En España, el primer trasplante de MO se realizó en un gemelo univitelino (singénico) en el año 1976 en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona por el equipo del Profesor Andreu Domingo, unos meses después se realizó el primer trasplante alogénico en el Hospital Clínico de Barcelona por el equipo dirigido por el Profesor Ciril Rozman.

A partir de entonces, los avances en el campo del trasplante se fueron desarrollando de forma notable. La aparición de nuevas fuentes de progenitores surge a partir de los hallazgos de Goodman y Hodgson en 1962 cuando demostraron la existencia de células progenitoras en la sangre periférica de ratones [17]. El desarrollo del estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) y su capacidad de movilización de los progenitores hematopoyéticos supuso igualmente un cambio decisivo. Así, se comenzó a finales de los años 80 a utilizar dicha fuente para la realización de trasplantes hematopoyéticos [18]. De

la misma forma, tras demostrar la presencia de progenitores hematopoyéticos en la sangre de SCU, se sugirió su uso para la realización trasplantes. En 1989 la Dra. Gluckman reportó el primer trasplante de SCU en un paciente afecto de Anemia de Fanconi ^[19].

Dada la baja probabilidad de encontrar donante familiares compatibles, a partir de los 70 se comenzaron a realizar los primeros trasplantes de donante no emparentado (DnE) ^[20]. El conocimiento más exhaustivo del sistema HLA y su gran heterogeneidad hizo necesaria la creación de registros internacionales para la recogida de los datos de dichos donantes y su puesta a disposición para pacientes de todo el mundo. El primer registro fue el Anthony Nolan, en Westminster Children's Hospital de Londres, que se creó en 1974. En 1991, año de la creación del Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO), nuestro país contaba con solo 102 donantes de MO. Sin embargo, gracias a la aplicación del Plan Nacional de Médula Ósea puesto en marcha en 2012, cuenta hoy en día con más de 350.000 donantes de médula y más de 70.000 unidades de SCU almacenadas.

En esta búsqueda de fuentes y alternativas, surge de una forma establecida a finales de los 90 el trasplante haploidéntico (progenitores de donante familiar cuya compatibilidad HLA es del 50%), hoy en día permite que un gran número de los pacientes sean trasplantados de una forma rápida. Sus inicios datan de 1969 por Dameshek, sin embargo, debido a la alta tasa de fallo de injerto, de EICR, y por lo tanto una elevada mortalidad relacionada con el trasplante, quedo relegado su uso hasta la llegada de la implementación de la ciclofosfamida (Cy) postrasplante por parte del grupo de Baltimore ^[21].

En los años 90, partiendo de la premisa que gran parte del éxito curativo del trasplante hematopoyético se debe al efecto injerto contra tumor, se comenzaron a utilizar regímenes de acondicionamiento menos agresivos, siendo este el comienzo de los conocidos trasplantes con acondicionamientos de intensidad reducida (AIR). Permitido además ofrecer el trasplante a pacientes de mayor edad o con comorbilidades. ^[22-24].

Todo ello unido a la mejoría en el tratamiento de soporte y de las complicaciones infecciosas, así como el mejor manejo de las complicaciones postrasplante, principalmente la EICR, han contribuido a formar el perfil del trasplante que conocemos en la actualidad, y han mejorado notablemente los resultados de supervivencia de estos

pacientes con el paso de los años, ampliando tanto las indicaciones como el grupo de posibles candidatos.

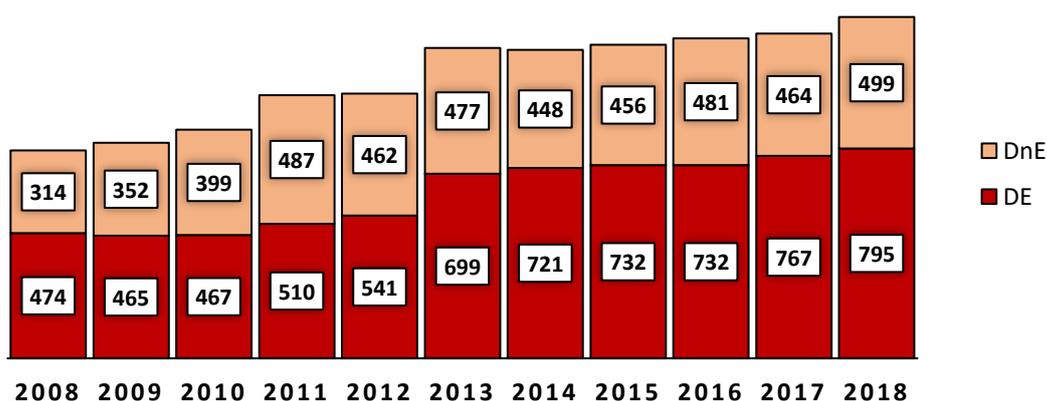
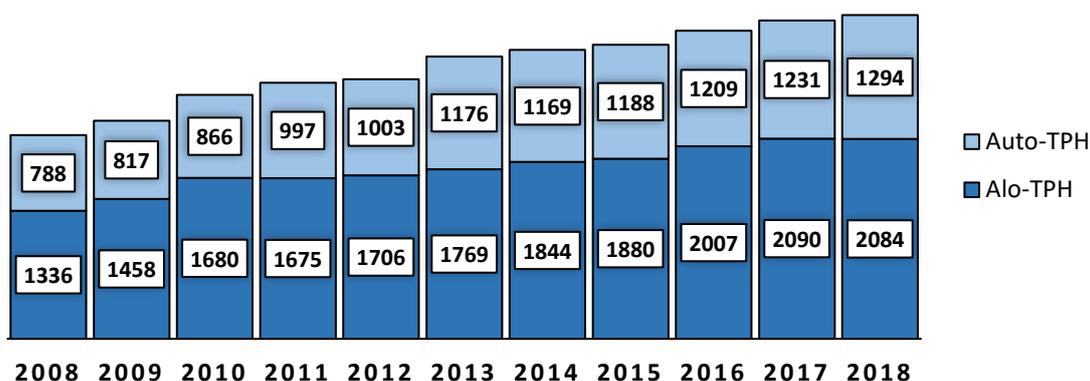
1891	Médula ósea vía oral
1939	Médula ósea intramedular
1951	Reconstitución hematopoyesis en modelos murinos
1956	Primer trasplante alogénico de médula ósea en humanos
1958	Descripción antígenos leucocitarios
1967	Descripción sistema HLA
1968	Primer trasplante alogénico con éxito
1969	Trasplante haploidéntico
1974	Primer registro de donantes de médula ósea
1976	Primer trasplante en España
1988	Primer trasplante de cordón umbilical
1989	Primer trasplante alogénico de sangre periférica
1990	Creación del REDMO
1997	Trasplante intensidad reducida
2012	Plan Nacional de Médula Ósea

Tabla 1. Avances en el trasplante a lo largo de los años.

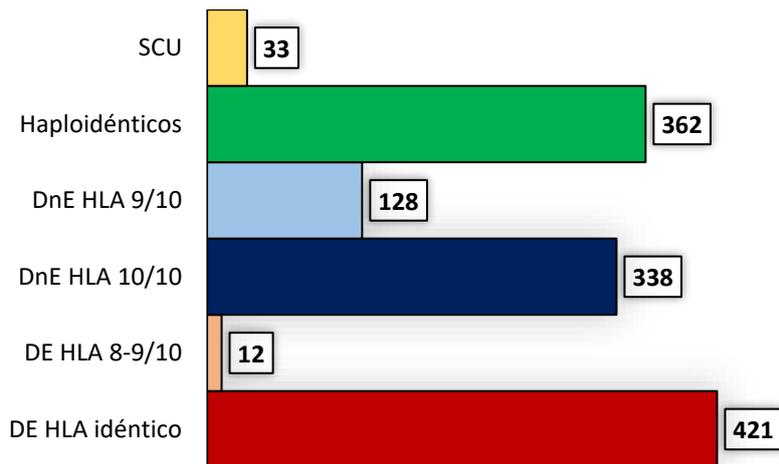
1.3 EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO EN CIFRAS

Los constantes progresos mencionados en el apartado previo han provocado un aumento del número de trasplantes en los últimos años. Dichos datos se ven reflejados tanto en los registros nacionales como en los internacionales.

El informe de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT) del año 2018, último disponible hasta la fecha de redacción de este trabajo, muestra el creciente número de procedimientos realizados a lo largo de la última década, reflejando un notorio incremento del empleo de fuentes de progenitores hematopoyéticos de DnE y haploidénticos ^{Gráficas 1, 2 y 3.}



Gráficas 1 y 2. Trasplantes realizados en España en la última década (Auto-TPH vs Alo-TPH) (DnE vs DE). Adaptación del informe de la ONT 2018.



Gráfica 3. Fuente de progenitores hematopoyéticos en España en 2018. Adaptación del informe de la ONT 2018.

Durante el año 2018, en el Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA), se realizaron un total de 132 trasplante de progenitores hematopoyéticos, de los cuales 66 fueron Auto-TPH, y otros 66 Alo-TPH (DE 47 y DnE 19).

Los datos de los registros internacionales, como el informe anual del EBMT del 2018, sitúan el número de Alo-TPH en 19.630 en los centros europeos, cifra que supone un incremento del 7,4% con respecto el año precedente, y de casi el 20% en el último lustro. Igualmente se refleja el importante aumento del uso de fuentes progenitores de DnE y de donantes haploidénticos, incrementos del 5 y 16% en el año 2018, respectivamente.

Con respecto a la disponibilidad de los DnE, la implementación del Plan Nacional de Médula Ósea promovido por el Ministerio de Sanidad desde el año 2012 ha supuesto un incremento del número de donantes tipados, con un incremento anual de 16% en el año 2018 en el REDMO.

1.4 COMPLICACIONES EN EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO ALOGÉNICO

Los resultados del Alo-TPH han ido mejorando sustancialmente en los últimos años. Sin embargo, sigue existiendo a largo plazo una no desdeñable toxicidad del procedimiento que condiciona no sólo la mortalidad sino también una disminución en la calidad de vida, por lo que existe aún mucho margen de mejora.

Dichas complicaciones se deben al resultado del daño en órganos y tejidos producido principalmente por el acondicionamiento, los fenómenos inmunológicos y a la toxicidad secundaria a los inmunosupresores empleados para prevenir la EICR, así como otros tratamientos concomitantes. Además de condicionar una profunda alteración en el sistema inmunitario de los receptores, predisponiéndolos a padecer infecciones oportunistas. Siendo estas las principales complicaciones causantes de la morbimortalidad relacionada con el trasplante ^[25, 26].

1.4.1 INFECCIONES OPORTUNISTAS

Los eventos infecciosos presentan una clara asociación entre su etiología y el periodo temporal del trasplante:

1. Periodo de pancitopenia (días 0 a +30). En este periodo las infecciones se ven facilitadas por la neutropenia y el tratamiento inmunosupresor. Destacan las infecciones de origen endógeno, principalmente las de etiología bacteriana (20-50%), asociando un aumento de la morbilidad y la mortalidad ^[27-29]. En los últimos años se ha producido un cambio en cuanto a la epidemiología de las infecciones bacterias, documentándose un aumento de bacilos gramnegativos, en su mayor parte debido a la aparición de bacterias multirresistentes ^[30, 31]. También características de esta franja temporal las infecciones micóticas localizadas, habitualmente la afectación oral o esofágica por *Candida spp*, así como las estomatitis herpéticas. Ambas han visto reducida notoriamente su incidencia desde la introducción de profilaxis farmacológicas ^[32, 33].

2. Periodo intermedio (días +30 al +100). Superada la fase de neutropenia, persiste un marcado estado de inmunodeficiencia favorecido por los inmunosupresores y los corticoides empleados en la EICR aguda, la cual suele presentarse en este periodo. En este momento destaca la detección del citomegalovirus (CMV), con una incidencia del 5 - 40%, presenta una mayor tasa en pacientes con receptor CMV-seropositivo o receptor CMV-seronegativo con donante CMV-seropositivo [34, 35]. En los últimos años se ha visto disminuida su mortalidad como consecuencia de una mejor prevención de la enfermedad por CMV, así como la instauración de técnicas de monitorización de la carga viral que permiten una aplicación precoz del tratamiento [36, 37]. Presentes también en la fase de neutropenia, se presentan en este periodo las infecciones fúngicas invasivas y las candidemias sistémicas, con tasas de detección inferiores al resto de eventos infecciosos, pero con una mayor severidad [38-41]. Con la introducción de la detección del antígeno soluble del galactomanano en suero, que en combinación con pruebas de imágenes han permitido la aplicación de tratamiento precoz en el caso del *Aspergillus spp*, así como el uso profiláctico y terapéutico de nuevos antifúngicos de mayor espectro, ha permitido mejorar notablemente el pronóstico de las infecciones fúngicas con afectación sistémica [32, 36, 42].

3. Periodo tardío (días +100 en adelante). Lo frecuente, es que con el paso del tiempo el riesgo de procesos infecciosos vaya disminuyendo progresivamente. Siendo los factores individuales los que predisponen a mayor riesgo de infecciones, destacando entre ellos el desarrollo de la EICR y sus tratamientos. Siendo habitual la hipogammaglobulinemia de la inmunodeficiencia humoral. Son frecuentes las infecciones bacterianas por coco grampositivos y encapsuladas. También destacan las infecciones víricas, como el virus varicela-zóster (10 - 50%) y virus respiratorios (10 - 20%) [43-45].

1.4.2 ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR

La EICR es el resultado de la agresión inmunológica por parte de las células linfoides infundidas contra los órganos del paciente. Este proceso fue descrito por primera vez hace más de medio siglo, denominándose inicialmente “síndrome secundario” [6].

No fue hasta 1966 cuando Billingham formuló los requisitos necesarios para el desarrollo de la EICR [46]:

1. El injerto debe contener células inmunocompetentes. Actualmente, sabemos que dichas células se corresponden con los linfocitos T (LT) maduros del donante.
 2. El receptor debe de tener antígenos tisulares que no estén presentes en el donante. La diferencia entre los complejos de histocompatibilidad (a veces en antígenos menores) entre donante y receptor es uno de los factores principales para el desarrollo de la EICR.
 3. El receptor debe ser incapaz de producir una respuesta inmune efectiva para eliminar las células trasplantadas.
- Fisiopatología de la EICR aguda:

Años más tarde, Ferrara describió el modelo fisiopatológico clásico de desarrollo de la EICR aguda en tres fases, el cual se encuentra totalmente vigente [47, 48], Figura 1:

1. Fase de daño tisular y activación de las células presentadoras de antígenos (CPA).
El daño tisular secundario al acondicionamiento, a la enfermedad de base y al desarrollo de infecciones da lugar a la liberación de moléculas coestimuladoras (DAMPs, del inglés *damage-associated molecular patterns* y PAMPs, del inglés *pathogen-associated molecular patterns*), de grandes cantidades de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina-1 (IL-1) o la IL-6 y la exposición de moléculas de adhesión, favoreciendo la activación

de los LT del donante, y desencadenando la liberación de mediadores inflamatorios [49, 50].

2. Activación, diferenciación y migración de LT a órganos diana. La interacción de las CPA del receptor con los LT del donante mediante señales coestimuladoras y la liberación de citocinas proinflamatorias como la IL-2 [51] y el interferón- γ (IFN- γ), desencadenan su activación, proliferación y diferenciación, evitando que entren en una fase anérgica [52]. Tras su activación los LT se diferencian principalmente hacia linfocitos con actividad citotóxica. Tras ello, se produce una migración de los LT a los órganos diana donde realizan una actividad inmune efectora. El daño producido por la EICR en el endotelio provoca la expresión de moléculas de adhesión celular (selectina-E) que favorecen el transvase de los LT hacia los órganos diana [53].

3. Efectores celulares e inflamatorios. Las células efectoras de este proceso son los LT citotóxicos, que inducen la apoptosis y lisis de las células diana mediante sistema Fas/Fas ligando y perforina/granzima [54, 55], así como la liberación de citocinas inflamatorias como TNF- α e IL-1, las cuales promueve la producción de nuevas citocinas, produciendo una amplificación constante de las señales inflamatorias [56].

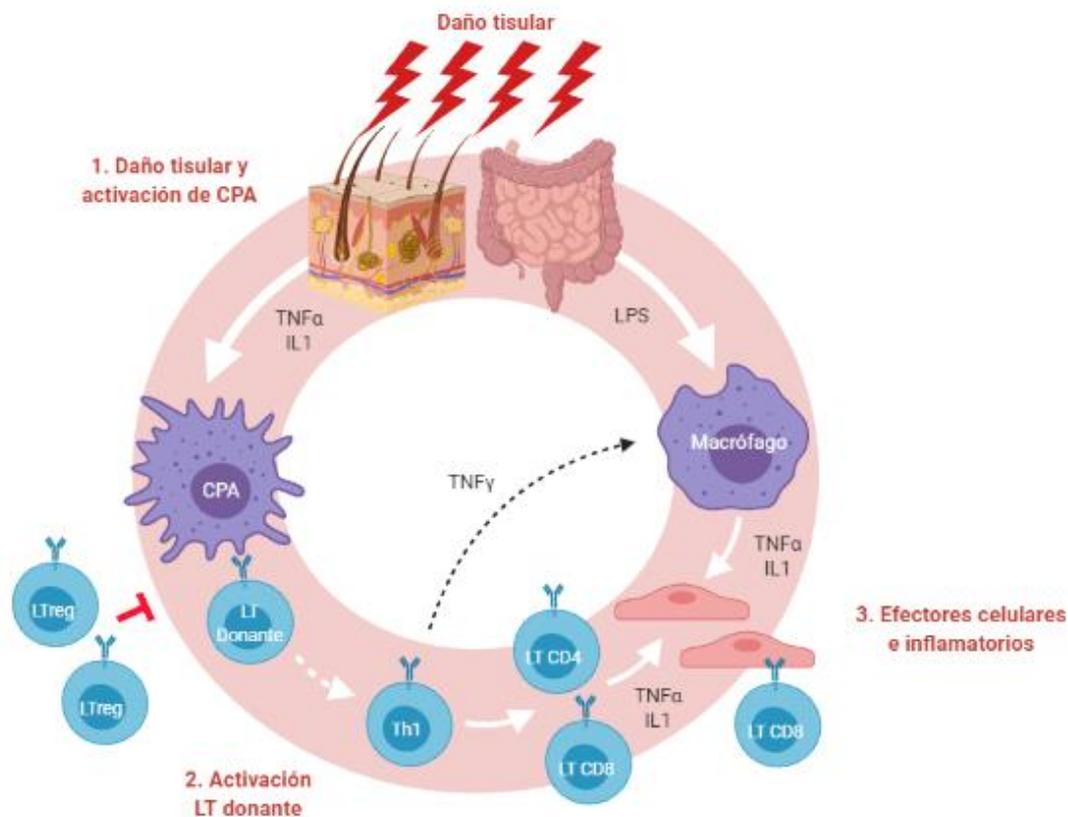


Figura 1. Fases de la fisiopatología de la EICR aguda. Adaptación de Ferrara, Lancet (2009) [47].

- Fisiopatología de la EICR crónica:

Los mecanismos fisiopatológicos de la EICR crónica no están completamente aclarados, aunque se postula como origen principal, la persistencia de linfocitos aloreactivos que se producen debido a la expansión de clones que evaden los deteriorados mecanismos de tolerancia inmune. Estos linfocitos pueden generar daño citotóxico directo o promover la expansión de clones de linfocitos B (LB) que producirían anticuerpos.

Un modelo conceptual podría dividir la fisiopatología de la EICR crónica en tres fases [57].

Figura 2.

1. Inflamación precoz debido al daño tisular. Las células T se activan durante esta fase inicial, contactando con las CPA que son reguladas positivamente por

moléculas coestimuladoras (DAMPs, PAMPs, receptor de la IL-33 (ST2), receptores *toll-like* (TLRs), NOD-R, del inglés *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*) como consecuencia del daño tisular.

2. Inflamación crónica, caracterizada por la respuesta inmune adaptativa.

Las células T reconocen los péptidos presentados por las CPA provocando su expansión y cambio de fenotipo hacia Th1 y Th17 [58, 59]. Los LT CD4+ autorreactivos y alorreactivos que lograron evadir la regulación inmunitaria por selección tímica producen IL-17A, la cual favorece el mantenimiento de la inflamación.

El daño producido a nivel del timo por el acondicionamiento condiciona la pérdida de células epiteliales tímicas necesarias para la generación de Treg y la eliminación de células T autorreactivas [60, 61]. Los Treg (CD4+, CD25+, FOXP3+) se desarrollan en el timo y su función es suprimir la proliferación de los linfocitos autorreactivos y regular la respuesta inmune normal. En pacientes sometidos a Alo-TPH, se ha demostrado que los linfocitos Treg se encuentran disminuidos en los pacientes con EICR crónica [62], mermando la capacidad de suprimir las células reactivas, produciéndose una proliferación de LT y destrucción autoinmune a nivel de los tejidos [63, 64].

Tras el Alo-TPH, la reconstitución de las células B está comprometida, observándose una reducción relativa de los LB naive, asociada a niveles elevados de BAFF (del inglés *B-cell activating factor*), que podrían favorecer una eliminación insuficiente de las células B alorreactivas y autorreactivas. Los niveles elevados de BAFF se han correlacionan con el desarrollo y la gravedad de la EICR crónica [65]. Además, se ha observado un aumento significativo en la señalización de las células B a través de la vía BCR (del inglés *B cell receptor*) en pacientes con EICR crónica, con una expresión basal elevada de componentes de señalización proximales, como la tirosina quinasa Syk, contribuyendo a una mayor capacidad de activación celular [66]. El aumento de la activación y supervivencia de las células B en la EICR crónico también se ha relacionado con la tirosina quinasa de Bruton, otra

molécula crítica en la vía de señalización del BCR ^[67]. También se ha demostrado que en los centros germinales, las células B sufren hipermutaciones somáticas, produciendo inmunoglobulina con cambio de isotipo, pudiendo favorecer la propagación de la EICR crónica cutánea, hepática y la bronquiolitis obliterante ^[68, 69].

3. Fibrosis tisular. Se produce una reparación tisular aberrante. Los macrófagos activados conducen a la activación de fibroblastos mediante el factor de crecimiento de plaquetas (PDGF- α) y el factor de crecimiento transformante (TGF- β), que da como resultado la producción de colágeno de la matriz extracelular y biglicano, que reticula el colágeno, aumentando la rigidez del tejido (fenotipo esclerótico) ^[70].

La producción de inmunoglobulina con cambio de isotipo promovido por el BAFF da como resultado el depósito de inmunoglobulinas patógenas en varios órganos, lo que contribuye al daño orgánico y la fibrosis.

Se perpetúa un estado de inflamación crónica debido a las células Th17 que evadieron la regulación inmune en la fase previa ^[71].

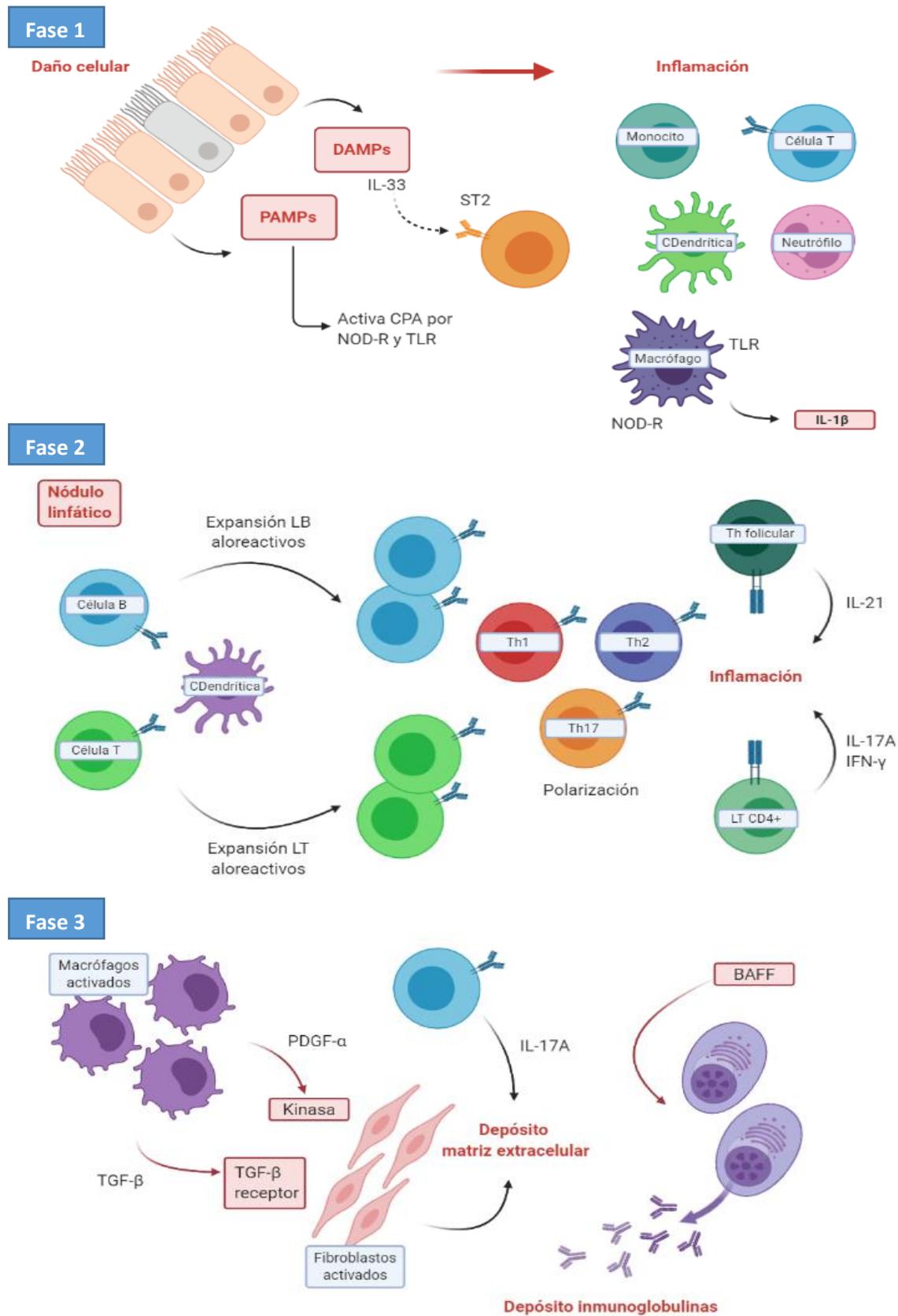


Figura 2. Fases de la fisiopatología de la EICR crónica. Adaptación de Cooke, Biol Blood Marrow Transplant (2017).

ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA

- Manifestaciones clínicas y su forma de presentación:

Clásicamente se definía la EICR en función de la temporalidad, considerando la aguda la que surge durante los 100 primeros días posteriores al trasplante ^[72]. Sin embargo, tras el *National Institute of Health Consensus Development Project* en 2005 (actualizado en 2014) se define en función de la sintomatología, no del momento de aparición, e incluso es posible la coexistencia de signos y/o síntomas atribuibles tanto a la EICR aguda como crónica, denominado como síndrome de solapamiento ^[73, 74], Tabla 2.

Categoría	Momento de aparición	Síntomas de EICR aguda	Síntomas de EICR crónica
EICR aguda			
Clásica	≤100 día postrasplante	Sí	No
Persistente, recurrente o tardía	>100 días postrasplante	Sí	No
EICR crónica			
Clásica		No	Sí
Mixta o solapamiento		Sí	Sí

Tabla 2. Características de la EICR en aguda y crónica.

Esta entidad clínico-patológica se caracteriza por presentar afectación cutánea, gastrointestinal y/o hepática ^[47, 75, 76]. La afectación cutánea suele manifestarse por un eritema maculopapuloso pruriginoso localizado o generalizado, cursando en los casos más graves con la formación de bullas, e incluso epidermólisis. La clínica de la afectación intestinal se diferencia según la localización del tracto predominantemente afecto. Las formas proximales se caracterizan por anorexia, náuseas y vómitos. Las afectaciones distales suelen ser las más graves, y cursan habitualmente con diarrea exudativa, siendo indicadores de gravedad la presencia de dolor abdominal, hemorragias e íleo paralítico.

La EICR hepática es una entidad que debe diferenciarse de otras causas de daño hepático, como son el síndrome de obstrucción sinusoidal, las infecciones virales o la toxicidad por fármacos. Se caracteriza clínicamente por ictericia secundaria al incremento de la bilirrubina conjugada y en menor medida de la fosfatasa alcalina, reflejo del daño a nivel de los canalículos biliares. Es rara la afectación hepática aislada por EICR, por lo que suele coincidir con la afectación de forma simultánea de la piel y/o el tubo digestivo.

La gradación la EICR aguda se realiza en función de la intensidad de afectación de los distintos órganos diana ^{Tabla 3} y del grado de afectación global. En este sentido, existen diversos sistemas de graduación con capacidad pronóstica. La primera clasificación en este ámbito fue descrita por Glucksberg en 1974 ^[77], siendo todavía la escala de referencia debido a su correlación con la supervivencia. Posteriormente sufrió modificaciones realizadas tras la *Consensus Conference on Acute GVHD Grading* en 1995 ^[78], ^{Tabla 4}, y más tarde una revisión actualizada por la *International Blood and Marrow Transplant Research* en 1997 ^[79], ^{Tabla 5}.

Grado	Piel	Hígado	Intestino
Grado 1	Eritema maculopapuloso 25% de la sup. corporal	Bilirrubina 2-3 gr/dL	Diarrea 500-1000 mL/día
Grado 2	Eritema maculopapuloso 25-50% de la sup. corporal	Bilirrubina 3-6 gr/dL	Diarrea 1000-1500 mL/día
Grado 3	Eritrodermia generalizada	Bilirrubina 6-15 gr/dL	Diarrea >1500 mL/día
Grado 4	Eritrodermia generalizada, con vesículas y descamación	Bilirrubina >15 gr/dL	Dolor y/o íleo

Tabla 3. Gradación de la afectación por órganos de la EICR aguda.

Glucksberg 1974. Modificación Consensus Conference on Acute GVHD Grading 1995*

Grado 1	Piel 1 a 2, afectación del estado general (AEG)
Grado 2	Piel 1 a 3 más hígado 1 y/o intestino 1, AEG Piel 3 aislada o intestino 1 por biopsia*
Grado 3	Piel 2 a 3 más hígado 2 a 3 y/o intestino 2 a 3
Grado 4	Piel 2 a 4 más hígado 2 a 4 y/o intestino 2 a 4, AEG grave

Tabla 4. Gradación de la afectación global de la EICR aguda. Glucksberg 1974. Modificación de 1995.

International Blood and Marrow Transplant Research 1997

Grado A	Piel estadio 1, extensión cutánea <25%, sin afectación hepática ni intestinal
Grado B	Piel 2, extensión cutánea 25-50%, o Hígado 1-2, bilirrubina >2 a 6 gr/dL, o Intestino 1-2, diarrea 500-1500 mL
Grado C	Piel 3, extensión cutánea >50%, o Hígado 3, bilirrubina >6 a 15 gr/dL, o Intestino 3, diarrea >1500 mL
Grado D	Piel 4, vesículas, o Hígado 4, bilirrubina >15 gr/dL, o Intestino 3, dolor e íleo

Tabla 5. Gradación de la afectación global de la EICR aguda: International Blood and Marrow Transplant 1997.

- Factores de riesgo implicados:

La prevalencia de la EICR aguda grados III - IV se cifra en aproximadamente en un 40%, pero su incidencia varía considerablemente dependiendo de la naturaleza del donante y del método de profilaxis empleada.

La incidencia depende de múltiples factores, siendo uno de los más determinantes la disparidad HLA. Aproximadamente el 30 - 50% de los pacientes que reciben un trasplante de DE desarrollan EICR aguda, incrementándose hasta el 60 - 80% en aquellos que reciben un trasplante de DnE, especialmente en el caso de que exista disparidad HLA [80-84].

Múltiples factores se han visto relacionados con el desarrollo de la EICR aguda [84-87], siendo los más relevantes la edad avanzada tanto de donante como de receptor [88], el tipo de profilaxis empleada (sin profilaxis > Ciclosporina A (CsA) o Metotrexate (MTX) > CsA con MTX > depleción linfocitaria T) [89], los niveles plasmáticos de fármacos inmunosupresores, la seropositividad del CMV del donante y del paciente [90], el uso de regímenes de acondicionamiento mieloablativos (AMA), el uso de donante femenino en receptores masculinos, los progenitores hematopoyéticos de SP [91], así como una mayor celularidad de progenitores CD34+ infundidos.

En los últimos años se han buscado otros factores que puedan influir en el desarrollo de la EICR aguda. Entre ellos. están ciertos polimorfismos de genes que promueven los estados inflamatorios (genes que codifican citocinas como los TNF, las interleucinas IL-1, IL-6 e IL-10, el IFN- γ , el TGF- β), predominio de ciertos subtipos celulares o el papel de la microbiota, demostrando en modelos murinos una reducción en la gravedad y en la incidencia de la EICR que recibieron profilaxis con antibióticos para “descontaminar” el tracto gastrointestinal [92-95].

- Tratamiento de la EICR aguda:

La primera línea terapéutica de estos pacientes se basa en dosis altas de corticoesteroides [96-98]. El régimen esteroideo clásico consiste en dosis de metilprednisolona a 2 mg/kg por día durante 7 o 14 días, seguido de una reducción gradual si se alcanza respuesta [99], no demostrándose un beneficio con el uso de dosis superiores [100]. Las respuestas completas (RC) duraderas se presentan en el 30 - 40% de los pacientes, alcanzando la mejoría clínica significativa aproximadamente en el 50% de los pacientes con grados de EICR II a IV [101]. Sin embargo, la tasa de respuesta disminuye a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad [96, 102]. La respuesta a esta primera línea terapéutica presenta una gran influencia pronóstica, de tal manera que aquellos pacientes que no han respondido tras 5-7 días o han progresado tras 72 horas, se consideran refractarios a los esteroides. En este grupo de pacientes se reportan tasas de mortalidad de hasta el 87% a los 2 años de seguimiento [103].

El gran problema de la EICR aguda surge del elevado porcentaje de pacientes que presentan recaída o no responden tras la primera línea, que puede llegar en alguna serie hasta cerca de 80% de los pacientes ^[96], condicionando un aumento de la mortalidad relacionada con esta complicación. Actualmente no existe un consenso sobre el tratamiento de rescate de los pacientes refractarios a esteroides ^[104-107], y este es uno de los campos de interés del presente trabajo de tesis doctoral. En este contexto clínico de la segunda línea de tratamiento tras los esteroides, los anticuerpos, policlonales o monoclonales, han constituido históricamente la segunda línea terapéutica de estos pacientes.

Existe una gran experiencia publicada del uso de la globulina antitimocítica (ATG) que actúa mediante su efecto anti-células T. Los estudios reportan tasas de respuestas globales (RG) del 20 - 50%, llegando estas al 70% en las afectaciones cutáneas ^[108-110]. También se ha utilizado una amplia gama de anticuerpos monoclonales dirigidos contra marcadores pan-T. ^[111-114], obteniéndose buenas respuestas con algunos de ellos, como el visilizumab, globales del 32% y una supervivencia global (SG) de 32% a los 6 meses ^[115]. Se han evaluado también anticuerpos monoclonales encargados de atacar al receptor de la IL-2 CD25 (daclizumab, basiliximab e inolimomab). En los ensayos, las tasas de respuesta variaron del 60% al 80%, sin embargo, estas se produjeron principalmente en pacientes con enfermedad de bajo grado ^[116-118]. El anticuerpo anti-CD52, alemtuzumab, también se ha administrado para el tratamiento de la EICR aguda refractaria a esteroides ^[119-122]. El uso del anticuerpo monoclonal anti-TNF α , infliximab o etanercept, se justifica en que los niveles elevados de esta citocina pro-inflamatoria en la EICR. Los anti-TNF consiguen obtener tasas de respuestas entre el 50 - 60%, principalmente en afectaciones intestinales ^[123-127].

De las modalidades quimioterapéuticas, el micofenolato mofetilo (MMF) ha sido uno de los más ampliamente estudiados. Sus tasas de respuesta oscilan entre 30% y el 67% y la SG del 33 - 76% en varios estudios que también incluyeron pacientes con EICR crónica ^[128-131]. El uso de MMF se comparó en un estudio observacional, frente inolimomab o etanercept como segunda línea de la EICR aguda refractaria. La tasa de RG para MMF fue del 55% en comparación con el 35% (inolimomab) y el 28% (etanercept), sin observarse

diferencias significativas en la SG ^[132]. La rapamicina, debido a su efecto inhibitor sobre la respuesta a la IL-2, también se ha evaluado en la EICR aguda refractaria ^[133, 134].

La pentostatina mediante su efecto inhibitor de la síntesis de ADN, también ha sido utilizada. En un estudio en fase I con 23 pacientes se observaron un 63% de RC ^[135].

Otra estrategia, con un mecanismo de acción diferente, es la fotoaféresis extracorpórea (FAE). La sangre se expone a 8-metoxipsoraleno seguido de irradiación UVA en un equipo externo validado antes de retornar al paciente, induciéndose la apoptosis de los leucocitos. Estos cuerpos apoptóticos son incorporados por las CPA, y estas inducen una reducción de citocinas proinflamatorias, la reactividad de los LT, y el aumento de los LTreg ^[136]. Un estudio fase II, en 38 pacientes con EICR refractaria a esteroides o dependientes, reportó una tasa de RC del 86% con grado II y del 30% con EICR grado IV. Las RC en las afectaciones cutáneas fueron cercanas al 80%, disminuyendo al 60% en las hepáticas e intestinales. Además de demostrar un descenso significativo de la mortalidad (11%) en los que alcanzaban RC (59%) ^[137, 138]. Dichos resultados se confirmaron en publicaciones posteriores, así como su beneficio en el tratamiento de la EICR crónica ^[139-141].

Más recientemente, han surgido con fuerza en este contexto el empleo de inhibidores de Janus quinasa (JAK-1/2), donde destaca ruxolitinib. Estos fármacos, suprimen la señalización inflamatoria que causa el daño tisular a través de esta vía y también aumentan la producción de células Treg. En un primer trabajo basado en resultados preclínicos, se trataron 6 pacientes con EICR aguda refractaria a esteroides, y todos ellos mejoraron significativamente ^[142]. Tras ello, se reportaron resultados retrospectivos del uso del ruxolitinib en 95 pacientes que lo habían recibido como terapia de rescate, 54 pacientes con EICR aguda grados III o IV, el restante se trataba de EICR crónica. La tasa de RG fue del 81%, con un 46% RC, con una supervivencia a los 6 meses del 79% ^[143]. Estos datos han sido confirmados en un ensayo fase II (REACH1), en el cual se han inscrito 71 pacientes (68% EICR aguda grado III - IV). Los resultados en el día +28 reflejaron una RG del 55% (completas 27%), llegando al 73% (completas 56%) durante el seguimiento. Observándose respuestas independientemente del grado de afectación y del órgano afecto por la EICR aguda ^[144, 145]. Como consecuencia de los resultados alcanzados, la FDA ha aprobado en 2019 ruxolitinib para el tratamiento de la EICR aguda refractaria a esteroides, siendo el primer y único fármaco en esta indicación hasta la fecha.

ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR CRÓNICA

- Manifestaciones clínicas y su forma de presentación:

Uno de los aspectos más complicados de la EICR crónica es el establecer un diagnóstico correcto. Hace cuatro décadas el grupo de Seattle clasificó a los pacientes con EICR crónica, de acuerdo con el momento de inicio de la sintomatología y su extensión, en limitada o extensa [72], Tabla 6. Esta clasificación es fácilmente reproducible, pero con gran limitación a la hora de graduar la gravedad de la afectación, no permitiendo discriminar en grupos de riesgo que influyan en la mortalidad.

Gradación clásica de la EICR crónica

Limitada	Afectación cutánea localizada, y/o disfunción hepática debida a EICR
Extensa	<p>Afectación cutánea extensa de piel Afectación limitada de piel y/o hígado más alguno de los siguientes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Afectación ocular (test Schirmer <5 mm) • Afectación de glándulas salivares o mucosa oral demostrado por biopsia • Histología hepática con hepatitis crónica agresiva, puentes de necrosis o cirrosis • Afectación de otros órganos

Tabla 6. Gradación clásica de la EICR crónica.

A lo largo de los años, diversos grupos han propuesto factores o índices con valor pronóstico con la finalidad de identificar a los pacientes de alto riesgo. Se ha reportado distintos factores con valor predictivo de la respuesta al tratamiento y la evolución de la EICR crónica entre los que se incluyen la trombocitopenia (plaquetas <100 x 10⁹/L), la forma progresiva, la edad avanzada, la bilirrubina elevada, la afectación intestinal y la afectación cutánea extensa [146-148]. Aunque se han propuesto distintos modelos pronósticos para identificar a estos pacientes de alto riesgo, de forma reciente solo se ha validado la respuesta utilizando los criterios diagnósticos establecidos por el *National Institute of Health Consensus Development Project* (NIH) en 2014 [74], probada con

posterioridad su capacidad para predecir la supervivencia en un ensayo observacional prospectivo ^[149].

El diagnóstico de la EICR crónica se realiza con la presencia de al menos un signo clínico diagnóstico o una manifestación característica confirmada con una prueba complementaria confirmatoria, ya que por sí solas no son suficientes para establecer el diagnóstico de forma inequívoca. Aunque se recomienda tener una confirmación histológica para establecer el diagnóstico, esta no es obligatoria si el paciente presenta al menos un criterio considerado diagnóstico. Una vez que se estable el diagnóstico definitivo de la EICR crónica, la extensión y la gravedad de cada uno de los órganos afectados se valora su gravedad utilizando las escalas ^{Tabla 7 y 8}.

A cada órgano se le asigna una puntuación en una escala de 0 a 3 según el grado de gravedad de la afectación por la EICR crónica y de ese modo se clasifica en las siguientes categorías:

1. Leve: afectación de uno o dos órganos (excepto el pulmón) con una puntuación máxima de 1. Sin repercusión funcional significativa.
2. Moderada: al menos un órgano afecto con una repercusión clínica funcional, pero no grave (puntuación máxima de 2). Más de tres órganos afectados con una puntuación máxima de 1 en todos los órganos afectados.
3. Grave: limitación funcional grave (puntuación de 3 en cualquier órgano), a excepción del pulmón que con una afectación >2 se considera grave.

Síntomas o signos diagnósticos	Síntomas o signos característicos
Piel Poiquilodermia Liquen plano- <i>like</i> Liquen escleroso- <i>like</i> Cambios escleróticos tipo morfea	Despigmentación, lesiones papuloescamosas
Uñas	Distrofia, uñas quebradizas, estrías, onicolisis, pterigium ungueal, pérdida ungueal
Boca Liquen plano- <i>like</i>	Xerostomía, mucocelos, atrofia mucosa, pseudomenbranas, úlceras
Cuero cabelludo y vello corporal	Alopecia con o sin erosiones, lesiones hiperqueratóticas, pérdida de vello corporal
Ojos	Sequedad, dolor o sensación cuerpo extraño, conjuntivitis cicatricial, queratoconjuntivitis seca (test Schirmer)
Tracto gastrointestinal Membrana esofágica Estenosis alta o tercio medio esófago	
Genitales Liquen plano- <i>like</i> Liquen escleroso- <i>like</i> Fimosis o estenosis uretral / vaginal	Erosiones, fisuras, úlceras
Pulmones Bronquiolitis obliterante por biopsia	Atrapamiento aéreo y bronquiectasias por TC
Aparato locomotor Fascitis Rigidez o contractura articular por esclerosis	Miositis o polimiositis por biopsia

Tabla 7. Criterios diagnósticos: síntomas y signos de la EICR crónica.

Puntuación	0	1	2	3
ESTADO GENERAL ECOG Karnofsky (KPS)	Asintomático o totalmente activo (ECOG 0, KPS 100%)	Sintomático, ambulatorio, limitación actividad física extenuante (ECOG 1, KPS 80-90%)	Sintomático, ambulatorio, se vale por sí mismo, deambula >50% del tiempo (ECOG 2, KPS 60-70%)	Sintomático, dificultad para el propio cuidado deambula >50% cama-sillón (ECOG 3-4, KPS <60%)
PIEL (% superficie) <input type="checkbox"/> Rash maculopapular / Eritema <input type="checkbox"/> Liquen plano-like <input type="checkbox"/> Esclerosis <input type="checkbox"/> Lesión paulo-escamosa o ictiosis <input type="checkbox"/> Queratosis pilaris-like Manifestaciones cutáneas	No afectación No lesiones escleróticas	1-18% superficie corporal	19-50% superficie corporal Esclerosis superficial	>50% superficie corporal <input type="checkbox"/> Esclerosis profunda <input type="checkbox"/> Esclerosis con fijación ósea <input type="checkbox"/> Movilidad limitada <input type="checkbox"/> Ulceración
BOCA Liquen plano-like presente <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	No síntomas	Síntomas leves que no dificultan la ingesta	Síntomas moderados que si limitan parcialmente la ingesta	Síntomas graves con limitación grave de la ingesta
OJOS Queratoconjuntivitis seca confirmada por oftalmólogo <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No explorada	No síntomas	Sequedad ocular leve que no afecta a la actividad (colirio lubricante <3 veces al día)	Sequedad ocular moderada que afecta a la actividad (colirio lubricante > 3 veces al día o tapones lacrimales) Sin pérdida de agudeza visual	Sequedad ocular graves que afecta a la actividad (dolor) o incapacidad laboral por síntomas o pérdida de visión
TRACTO GASTROINTESTINAL <input type="checkbox"/> Membrana esofágica / Estenosis alta o tercio medio <input type="checkbox"/> Disfagia <input type="checkbox"/> Anorexia <input type="checkbox"/> Náuseas <input type="checkbox"/> Vómitos <input type="checkbox"/> Diarrea <input type="checkbox"/> Pérdida de peso >5% <input type="checkbox"/> Imposibilidad alimentación	No síntomas	Síntomas sin pérdida peso (<5%)	Síntomas que ocasionan una pérdida de peso (5-15%) Diarrea moderada sin interferencia en la actividad	Síntomas con pérdida peso (>15%), requiere suplemento nutricional-calórico adicional Dilataciones esofágicas Diarrea grave que interfiere de forma significativa en la vida diaria
HÍGADO	Función hepática normal con ALT o FA <3 x VN	Bilirrubina total normal con ALT 3-5 x VN o FA ≥ 3 x VN	Bilirrubina total <3 mg/dL o FA > 5 x VN	Bilirrubina total >3 mg/dL
PULMÓN Sintomatología FEV1%	No síntomas FEV1 ≥80%	Síntomas leves (taquipnea tras subir un tramo de escaleras) FEV1 60-79%	Síntomas moderados (taquipnea al andar en suelo llano) FEV1 40-59%	Síntomas graves (taquipnea de reposo, necesidad de oxigenoterapia) FEV1 <39%
APARATO LOCOMOTOR Puntuación P-ROM (rango movilidad articulaciones): hombro, codo, muñeca, dedos, cadera (escala 1 - 7)	No síntomas	Rigidez leve en brazos o piernas. Rango de movimiento normal o reducción leve y no afectación de la actividad	Rigidez en brazos o piernas o contracturas en articulaciones, fascitis, reducción moderada del rango de la movilidad y no afectación de la actividad de la vida diaria	
TRACTO GENITAL <input type="checkbox"/> No explorado Sexualmente activo <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	No signos	Signos leves y mujeres con o sin molestias en la exploración	Signos moderados y puedan tener molestias en la exploración	Signos graves y con o sin molestias en la exploración
OTRAS ALTERACIONES, DATOS CLÍNICOS O COMPLICACIONES	<input type="checkbox"/> Ascitis (serositis) <input type="checkbox"/> Derrame pericárdico <input type="checkbox"/> Derrame pleural <input type="checkbox"/> Síndrome nefrótico	<input type="checkbox"/> Miastenia Gravis <input type="checkbox"/> Neuropatía periférica <input type="checkbox"/> Polimiositis <input type="checkbox"/> Pérdida peso > 5% sin síntomas	<input type="checkbox"/> Eosinofilia >500/mL <input type="checkbox"/> Plaquetas <100.000/mL <input type="checkbox"/> Otros	

Tabla 8. Valoración de la gravedad de la EICR crónica por órganos.

- Factores de riesgo implicados:

El desarrollo de la EICR crónica la presentan aproximadamente un 40 - 50% de los pacientes que han recibido un Alo-TPH, incidencia que ha aumentado en los últimos años debido al aumento de la edad del paciente y al aumento uso de donantes no relacionados y / o incompatibles ^[150]. Aproximadamente un 40% de los trasplantes de DE HLA idéntico, el 50% de los sometidos a trasplante de DE con disparidad HLA y hasta un 70% de los trasplantes de DnE desarrollaran esta complicación ^[88, 151, 152]. Además, tanto la edad del donante como la del receptor influyen en su desarrollo ^[88]. Mientras que la incidencia es menor (20 - 40%) en niños, su incidencia aumenta a medida que aumenta la edad (60%) ^[153]. Pero el predictor pronóstico más potente es el antecedente de EICR aguda, de tal forma que la desarrollan el 60% de los que habían presentado EICR aguda grado I, un 80% de los grados II-VI, frente al 20 - 30% en los pacientes sin EICR aguda previa (EICR crónica *de novo*) ^[154, 155]. Otro factor que favorece el desarrollo de la EICR crónica es la infusión de progenitores de SP, así como una mayor cantidad de progenitores hematopoyéticos infundidos (CD34+ >8 x 10⁶/kg) ^[156-160]. El sexo también es un factor determinante, en los casos en los que se produce la infusión de un producto de donante mujer en receptor varón se reporta un incremento del desarrollo de la EICR crónica, atribuible a anticuerpos dirigidos contra antígenos menores codificados por el cromosoma Y ^[161]. Por otro lado, se ha reportado que la depleción de LT del producto infundido disminuye de manera significativa la incidencia y gravedad tanto de la EICR aguda como crónica. Esto es válido para la depleción producida *ex vivo* con reducción de LT del inóculo, como la inducida *in vivo* por el uso de mediante el uso de ATG o alemtuzumab ^[162, 163].

- Tratamiento de la EICR crónica:

A la hora del manejo terapéutico de la EICR crónica hay que tener en cuenta tanto la gravedad de la afectación, como el riesgo de recaída de la enfermedad hematológica. En este sentido se ha observado la relación existente entre la EICR crónica y el efecto injerto contra leucemia, de tal manera que su desarrollo puede tener un efecto beneficioso en la supervivencia ^[164-166].

El tratamiento de primera línea de la EICR crónica se basa en la combinación de prednisona y un inhibidor de calcineurina, como CsA o tacrolimus. Dicha combinación demostró un beneficio en la SG en pacientes de alto riesgo (EICR crónica extensa y trombocitopenia). A los 5 años, un 26% los pacientes tratados únicamente con prednisona estaba vivo frente a un 48% en la terapia combinada con CsA ^[167]. Además, la terapia combinada con agentes inmunosupresores se considera para minimizar la toxicidad del tratamiento prolongado con corticosteroides (osteoporosis, osteonecrosis, diabetes mellitus). El tratamiento sistémico generalmente se inicia a una dosis de prednisona de 0,5 a 1 mg/kg por día, seguido de una disminución gradual para alcanzar un régimen de días alternos hasta su suspensión. La tasa de remisiones completas en estos pacientes es de aproximadamente 30 - 50% ^[168].

Aproximadamente, el 50 - 60% de los pacientes con EICR crónica requieren una segunda línea de tratamiento dentro de los 2 años posteriores al tratamiento sistémico inicial ^[169]. Recientemente, un estudio prospectivo demostró que al año del inicio de la terapia sistémica menos del 20% de los pacientes presentaban una respuesta duradera sin terapia sistémica adicional. Se observó así, que la EICR crónica resistente es relativamente frecuente y que probablemente se requieran tratamientos de forma continuada ^[170].

En estos pacientes no respondedores a la primera línea terapéutica, no existe ninguna línea estándar de rescate, de manera que siempre que sea posible en estos pacientes debería valorarse la inclusión en ensayos clínicos. Al no existir un orden establecido entre las distintas opciones posteriores, deberá escogerse de manera individualizada en función de las características de cada paciente, así como de la experiencia y la disponibilidad de cada centro. Las opciones terapéuticas más utilizadas son las siguientes ^[171, 172]:

Los inhibidores de la vía de activación linfocitaria mTOR (del inglés *mammalian target of rapamycin*), como el caso del sirolimus que ha reportado tasas de RG del 60% siendo un 20% de ellas completas ^[173, 174]. El MMF suprime la proliferación linfocitaria mediante su efecto inhibitorio de la inosina monofosfato deshidrogenasa, así bloqueando la síntesis de purinas. Los estudios han reportado RG del 60 - 70% en pacientes refractarios ^[129, 130, 175], pero no se ha visto un beneficio en su adición al tratamiento sistémico inicial ^[176]. Los estudios con el rituximab (anti-CD20) han demostrado tasas de RG del 70 - 80%, siendo estas principalmente a nivel cutáneo y músculo-esquelético ^[177-179]. La FAE es una de las

líneas terapéuticas más contrastadas, diversos estudios han descrito RG del 60 - 70%, siendo completas en un 30% de estas y observándose un mayor beneficio en las afectaciones cutáneas y de la mucosa oral. Se observó una reducción o suspensión del tratamiento inmunosupresor concomitante en un 80% de los pacientes [140, 141, 180-182]. Imatinib mesilato se ha empleado basándose en su capacidad de inhibición de la señalización intracelular de otras tirosina quinasa diferentes de BCR-ABL como TGF- β y del PDGF, que están involucradas en los cambios fibróticos de estos pacientes. Se han descrito cerca de un 80% de respuestas a los 6 meses tras su inicio (dosis de 100 mg/día) en una serie de 19 pacientes con EICR crónica refractaria al menos 2 líneas terapéuticas [183]. Dicho beneficio se observó principalmente en los pacientes que presentaban formas esclerosantes de la enfermedad [184, 185]. Ibrutinib, mediante su efecto inhibidor de la tirosina quinasa Bruton en las células B, induciendo su apoptosis, así como la inhibición irreversible de la quinasa inducible por IL-2 en las células T ha sido utilizado en pacientes con EICR crónica refractaria [186]. En un estudio con 42 pacientes tratados con una dosis de 420 mg se alcanzaron tasas de RG del 69%, siendo el 31% RC, a los 26 meses. El beneficio predominante se observó en los pacientes con cambios escleróticos. Ocho pacientes lograron suspender de forma completa el tratamiento con corticosteroides [187, 188]. Como consecuencia de estos estudios, la FDA decidió aprobar en 2017 ibrutinib en el tratamiento de la EICR crónica resistente a primera línea, siendo el primero en alcanzar este hito. Al igual que en EICR aguda, ruxolitinib se ha evaluado en EICR crónica. Así, Spoerl informó de su beneficio en 2 pacientes con afectación cutánea por EICR crónica [142]. Posteriormente, en un estudio alemán, se analizó retrospectivamente su uso en 41 pacientes EICR crónica refractaria (mediana de 3 líneas previas de terapia). La tasa de respuesta definida como 50% de disminución de la inmunosupresión o ausencia de síntomas de EICR crónica fue del 85% tras una mediana de 3 semanas, con respuestas en múltiples órganos afectos [143]. Además de reportar discontinuaciones de la terapia inmunosupresora en el 68%, y la disminución en el 21% de los pacientes [189].

La EICR crónica con sintomatología leve principalmente se trata con terapias tópicas, aunque estos agentes también se pueden usar como complementos de la terapia sistémica para mejorar y acelerar la respuesta local [190, 191].

1.4.3 FALLO DE INJERTO

Se define como fallo de injerto primario la falta de injerto inicial de las células donantes y como fallo de injerto secundario a la pérdida de células del donante después del injerto inicial. El fallo del injerto mediado principalmente por la respuesta inmune del receptor a las células hematopoyéticas del donante se denomina rechazo del injerto. El fallo de injerto es una complicación menos frecuente que la EICR en el Alo-TPH, en torno al 5 - 10% de los casos dependiendo de las series ^[192, 193].

- Factores de riesgo implicados:

Entre los factores asociados al fallo del injerto se incluye la disparidad HLA. En el contexto del trasplante de DnE se ha evidenciado una mayor tasa de fallo de injerto, siendo aún mayor cuando hay dos o más disparidades de los antígenos de HLA ^[194].

Además, la presencia de anticuerpos anti-HLA específicos frente al donante está asociado con un mayor riesgo de fallo de injerto en el contexto de trasplante de DnE y muy especialmente en el trasplante haploidéntico, observándose una reducción de la SG ^[195, 196]. Su alta prevalencia, el 10 - 40% ^[197], y el incremento de este tipo de donantes ha llevado a la publicación de algunos documentos de consenso sobre su manejo ^[198].

En cuanto a la fuente celular, se han reportado tasas superiores en la infusión de MO con respecto a la SP ^[160, 199, 200], siendo cercanas al 20% con el uso de la SCU ^[201], aunque en este último caso la cantidad insuficiente de progenitores hematopoyéticos igualmente es otro factor predisponente, sin existir un claro límite inferior de progenitores CD34+ a partir del que se asocie el fallo. La criopreservación de los progenitores hematopoyéticos también es un factor condicionante, así como la depleción de LT del inóculo.

La tasa de fallo del injerto después de los regímenes AIR ronda el 5 - 20%, en comparación con los valores del 1 - 5% de los regímenes AMA ^[202-204]. El uso de ATG ^[205] o irradiación corporal total (ICT) ha demostrado una reducción de la tasa de fallo de injerto. Igualmente, la administración postrasplante de Cy en dosis altas que se emplea en el trasplante haploidéntico y en muchos programas de trasplante de DnE con disparidad HLA ha demostrado disminuir los LT aloreactivos del receptor favoreciendo el injerto ^[206].

Otros factores de riesgo predisponentes del fallo de injerto son la incompatibilidad del grupo ABO ^[207], trastornos sanguíneos no malignos como la anemia aplásica y la talasemia mayor, el uso de fármacos mielotóxicos, el desarrollo de EICR, o las infecciones víricas.

- Tratamiento del fallo de injerto:

Las medidas preventivas y la identificación temprana de causas potenciales para tratar de revertirlas son los aspectos clave para tratarla. Las primeras se centran en una correcta selección de donante, garantizar la calidad de los progenitores hematopoyéticos, depleccionar los anticuerpos anti-HLA (o usar donantes alternativos en estos casos), uso de acondicionamientos de mayor intensidad, uso de ATG, ICT o Cy postrasplante, evaluación del quimerismo en los AIR o evitar fármacos mielotóxicos.

En el caso de producirse el fallo de injerto se han de tomar medidas con vistas a la recuperación de este. El uso de factores de crecimiento como el G-CSF ^[208] o los análogos del receptor de la trombopoyetina (TPO) ^[209-211] se ha empleado en este contexto. Es importante también el ajuste de la terapia inmunosupresora en el caso de aparición de quimerismo mixto. La infusión de linfocitos del donante (ILD) ha demostrado reducir el riesgo de fallo del injerto ^[212], especialmente en casos de linfodepleción T y quimera mixta ^[213, 214].

Finalmente, en casos refractarios, se ha optado por una infusión de CD34+ (*boost*) con tasas de recuperación del injerto de hasta el 75% ^[215, 216], o bien un segundo Alo-TPH. En este último caso las series reportan tasas de injerto de entre 60 - 90% con una SG a los 3 - 5 años que oscila entre el 30 y el 60% según los estudios ^[217-219].

1.4.4 CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE

Las citopenias tras la realización de un Alo-TPH son una complicación que confiere una gran morbimortalidad. Su etiología suele ser multifactorial, con un gran abanico de posibles factores causantes o predisponentes, incluyendo el fallo de injerto, la recaída de la enfermedad hematológica, la EICR, la infección por CMV, las toxicidades medicamentosas.

Dentro de ese origen multifactorial, los trastornos autoinmunes desempeñan un importante papel. Se postula que el mecanismo subyacente para el desarrollo de los fenómenos de autoinmunidad se deba a una función deteriorada de los Treg que permitan que las LT autorreactivas actúen sin control ^[220]. La recuperación temprana de los LB con una reconstitución tardía de los Treg después del trasplante puede predisponer a los pacientes al desarrollo de trastornos autoinmunes ^[221]. La desregulación de la reconstitución linfocitaria en el período posterior al trasplante podría favorecer la proliferación oligoclonal y que los anticuerpos resultantes desencadenen el desarrollo de citopenias inmunes. Además, la afectación del nicho hematopoyético tras la depleción de los osteoblastos del endostio (que siguen siendo del receptor) como consecuencia de la EICR influye igualmente en la disminución en la capacidad hematopoyética postrasplante ^[222].

- Factores de riesgo implicados:

Su incidencia no está definitivamente establecida, pero se estima que ocurre entre un 5-10% de los pacientes. Se expresan generalmente por citopenias únicas, y menos frecuentemente bilineales, siendo la pancitopenia un evento escasamente reportado en la literatura ^[223]. Las líneas más frecuentemente afectas la eritropoyética y la trombopoyética.

Distintos trabajos han observado tasas superiores en la población pediátrica, así como en los pacientes que padecían enfermedades no malignas ^[224, 225]. También se ha demostrado su asociación con los trasplantes de DnE y el uso de SCU como fuente progenitora ^[226, 227]. Además, como se ha mencionado, existe un incremento del riesgo en

los pacientes que han desarrollado EICR aguda o crónica [228-230]. Un estudio más reciente ha identificado el incremento de la cifra de inmunoglobulinas (Ig) como predictor del desarrollo de citopenias inmunomediadas [230].

- Abordaje y tratamiento de las citopenias periféricas postrasplante:

Ante la aparición de citopenias de SP tras la realización de un Alo-TPH ha de realizarse un correcto diagnóstico etiológico, antes de atribuir el cuadro a la presencia de un trastorno inmune agudo. Es fundamental excluir la recaída de la enfermedad hematológica, las infecciones como el CMV y la mielosupresión inducida por fármacos. Además, el análisis del quimerismo medular y periférico es una herramienta muy valiosa a la hora de realizar el diagnóstico diferencial.

En cuanto al tratamiento, los corticoesteroides son generalmente la primera opción terapéutica, reportando tasas variables de respuesta a la primera línea (25 - 60%). Para los pacientes refractarios se han observado respuestas a diversas opciones terapéuticas empleadas, donde destacan las Ig [231] y el rituximab [232, 233]. El uso reciente de los análogos de TPO en la trombocitopenia ha demostrado alcanzar respuestas favorables, reportándose recuperaciones de plaquetas por encima de $50 \times 10^9/L$ sin necesidad de soporte transfusional en más del 70% de los pacientes [209, 211]. Sin embargo, en un porcentaje elevado de los pacientes se produce una pérdida de la respuesta, o ausencia de respuesta inicial. Dado que además TPO está implicada en el mantenimiento de la célula hematopoyética y eltrombopag está aprobado en la aplasia medular [234], se ha empleado también para otras citopenias postrasplante (leucopenia y anemia) [235], además de los factores de crecimiento hematopoyéticos clásicos (G-CSF, EPO) [208, 236].

1.4.5 CISTITIS HEMORRÁGICA

La cistitis hemorrágica es una complicación relativamente frecuente en el contexto del Alo-TPH, que suele producirse durante las primeras semanas postrasplante. Su etiopatogenia es multifactorial, incluyendo la combinación del daño citopático sobre la mucosa vesical debido a la replicación de *Poliomavirus* BK, y en ocasiones el JC, el daño químico producido por el régimen de acondicionamiento y la aloreactividad del donante.

Se produce en aproximadamente el 20% de los pacientes, siendo su desarrollo favorecido por la presencia de varios factores de riesgo, tales como la SCU como fuente progenitora, el donante haploidéntico, el régimen de acondicionamiento mieloablativo, así como el uso de ATG, Cy, ICT o busulfán, además de la interurrencia de EICR aguda ^[237].

Se clasifica en función de su grado de afectación en:

- Grado I: hematuria microscópica.
- Grado II: hematuria macroscópica sin expulsión de coágulos.
- Grado III: hematuria macroscópica con expulsión de coágulos sin obstrucción.
- Grado IV: hematuria macroscópica con coágulos que pueden o causan retención urinaria.

El tratamiento de esta complicación se base principalmente en realizar lavados vesicales con suero para evitar la obstrucción por la formación de coágulos. Además se centra en controlar la replicación viral con el uso de un antiviral análogo de nucleótido, el cidofovir, tras el cual se observaron RC del 70 - 80% ^[238, 239].

En los casos refractarios se han probado múltiples líneas, como es el caso ácido hialurónico intravesical, el concentrado de factor XIII, la aplicación tópica de cola de fibrina, la cámara hiperbárica, presentando una gran variabilidad en sus respuestas ^[240].

1.5 LAS CÉLULAS MESENQUIMALES

Su descripción original, en el nicho hematopoyético, data de la década de los 60 del siglo anterior. Friedenstein y sus colaboradores aislaron, mediante cultivo celular, células de MO de ratones y de cerdos. Sus resultados mostraron la existencia de unas células adherentes, de aspecto fibroblástico, capacidad de diferenciación hacia células osteogénicas y condrogénicas, así como la capacidad para formar colonias, por lo que las denominaron inicialmente como unidades formadoras de colonias fibroblásticas (CFU-F) [241-243].

Las células mesenquimales son reguladoras del nicho hematopoyético y por lo tanto desempeñan un papel clave en el contexto del Alo-TPH, influyendo en el injerto medular de los progenitores y disminuyen la aloreactividad.

Desde el punto de vista nominal, se reconocen por el acrónimo MSC, del inglés *mesenchymal stromal cells* o *mesenchymal stem cells*, aunque la *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) promueve el uso de la primera para cerrar debates sobre su capacidad multipotencial [244, 245].

1.5.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LAS MSC

La ISCT describió en el año 2006 los criterios mínimos para definir a las MSC, basados en sus principales características biológicas [246].

1. Su capacidad de adherencia al plástico, la cual le permite su aislamiento, cultivo y expansión celular *in vitro* ^{Foto 1}.
2. Un perfil inmunofenotípico característico mediante citometría de flujo, basado en la ausencia de expresión de marcadores hematopoyéticos (<5%), como CD11b, CD34, CD14 y CD45, por la presencia de positividad (>95%) para los marcadores CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106 y CD166, así mismo como la negatividad de los HLA de clase 2 [247].

3. Capacidad diferenciación multilineal *in vitro* hacia osteoblastos, adipocitos y condrocitos ^[248], Foto 2, bajo unas condiciones estándar de cultivo.

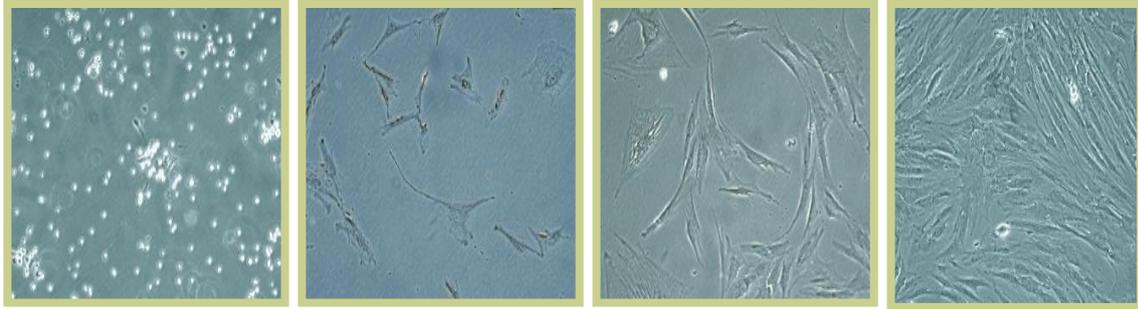


Foto 1. Evolución de la adherencia al plástico de las MSC durante el cultivo *in vitro*.

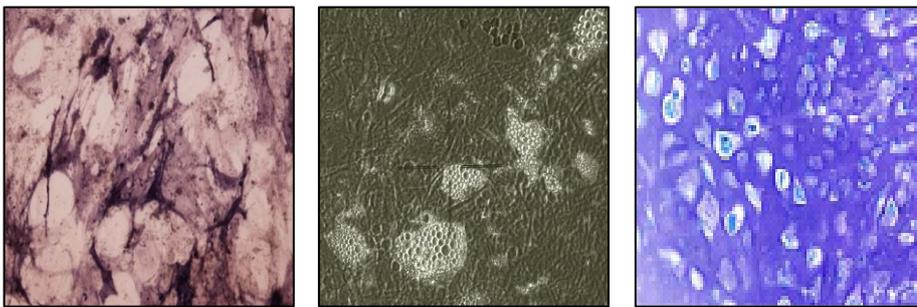


Foto 2. Diferenciación *in vitro* de las MSC a osteoblastos, adipocitos y condrocitos (respectivamente).

1.5.2 PROPIEDADES INMUNO-REGULADORAS DE LAS MSC

El efecto inmunomodulador de las MSC, que no fue destacado inicialmente tras su descripción inicial, se ha convertido probablemente en su mayor atractivo desde el punto de vista terapéutico, a la vista de las indicaciones donde su empleo ha avanzado más en el desarrollo clínico, como la colitis ulcerosa o la EICR, dos enfermedades de base inmune evidente ^[249]. Se postula que su efecto se produce mediante el contacto directo célula-célula, pero también mediante la liberación de múltiples citocinas y otros factores solubles, además de la secreción de vesículas extracelulares y nanotubos ^[250].

- Mecanismo de acción de las MSC *in vitro*:

El grupo de Krampera fue uno de los primeros en determinar que la relación entre el número de MSC y el de linfocitos es fundamental para cumplir con su función inmunosupresora, es decir, que el efecto producido es dependiente de la dosis, siendo mayor su efecto a mayor cantidad de MSC [251].

Más tarde, Augello y colaboradores observaron que la vía de señalización de la proteína inhibitoria PD-1 (*Programmed Death 1*) al unirse con sus ligandos PD-L1 y PD-L2 modula la liberación de citocinas por parte de los linfocitos, demostrando así la importancia del contacto directo en la inmunomodulación ejercida por las MSC [252].

Posteriormente, González y su equipo determinaron que el efecto supresor no solo es dependiente del contacto celular, ya que al cultivar de forma conjunta las MSC con linfocitos separados de una membrana semipermeable, el efecto inhibitor persistía en menor medida. De la misma forma, en condiciones de contacto celular directo el bloqueo de la liberación de ciertos factores solubles secretados por las MSC (PGE-2 e IL-10) el efecto disminuía de manera significativa [253]. Con este antecedente surgió la idea de que los factores solubles secretados por las MSC juegan un papel predominante como inmunomoduladores.

Entre estos factores inmunomoduladores destacan diversos factores de crecimiento y citocinas, incluidos TGF- β 1, prostaglandina E2 (PGE-2), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO), factor estimulante de colonias de macrófagos (GM-CSF), G-CSF o IL-10 [254].

- Regulación de la respuesta inmune de las MSC *in vitro* Figura 3:

Los primeros estudios con respecto a la regulación inmunitaria demostraron un efecto supresor sobre la proliferación de linfocitos estimulados. Así, el co-cultivo de MSC con linfocitos activados demostró una reducción de la tasa de proliferación de estos en más del 50% [251, 255], y este efecto se revertía tras retirar las MSC y volver a estimular la activación linfocitaria [255]. Esta propiedad fue confirmada en los estudios de Glennie, quien describió además que el efecto inhibitor de las MSC sobre la proliferación

linfocitaria se debe a la supresión que estas ejercen sobre la ciclina D2 y la sobreexpresión de p27 a nivel del LT, que se traduce en una parada en fase G0/G1 del ciclo celular [256]. Asimismo, para actuar sobre los linfocitos, no requerían de la presencia de CPA ni de células reguladoras [251]. Además, se reportó que dicha capacidad inhibitoria es independiente del HLA, ya que los resultados obtenidos eran similares usando MSC alogénicas [257].

Más tarde, Aggarwal y Pittenger realizaron cultivos de MSC con LT en presencia de citocinas promotoras de la diferenciación hacia estirpes de linfocitos Th1 y Th2. Observaron que los Th1 disminuían la secreción de citocinas proinflamatorias como el IFN- γ , mientras que los Th2 aumentaban la secreción de IL-4, una citocina con efecto antiinflamatorio. En este estudio, también se determinó que el mismo cultivo en presencia de IL-2, aumenta significativamente los niveles de los Treg [258]. Por otro lado, Ghannam realizó dichos cultivos con linfocitos Th17. Reportó la capacidad de las MSC de inhibir la actividad de los Th17, lo que provocó una disminución de la secreción de las citocinas proinflamatorias, además de un leve aumento de las antiinflamatorias. Incluso, se observó la diferenciación hacia un fenotipo Treg cuando se realizaba el cultivo en presencia de células Th17 completamente diferenciadas [259].

Múltiples estudios han demostrado que las MSC no solo suprimen la proliferación y activación de las células T, sino que también juegan un papel fundamental en la expansión de las Treg (CD4+, CD25+, FOXP3+), células que realizan un papel primordial en la inducción de la tolerancia inmune periférica. Además, el HLA-G5 secretado por las MSC contribuye a la expansión de dichas células [260].

En otros estudios se describió un efecto supresor sobre la diferenciación de los precursores hacia células dendríticas, así como la maduración de estas. Observándose una disminución de la producción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la IL-12, y un aumento en la producción de citocinas antiinflamatorias como IL-10 [261].

Las MSC actúan también sobre los linfocitos B. Así, tras la estimulación de LB con Ig, junto con CD40 ligando, IL-2 e IL-4, se demostró que tras el co-cultivo con MSC, los LB ven inhibida su proliferación y su maduración hacia célula plasmática, disminuyendo así la

producción de Ig ^[262]. Más recientemente, se demostró que la IL-10 producida por las MSC aumenta de forma notoria significativamente la producción de LB reguladores CD5+ ^[263]. Además, pueden aumentar el número de LB de memoria y mejorar el nivel de expresión del receptor del BAFF en los LB ^[264].

También se ha demostrado un efecto inhibitorio sobre los neutrófilos atenuando su activación ^[265], y sobre las células NK suprimiendo su proliferación ^[266].

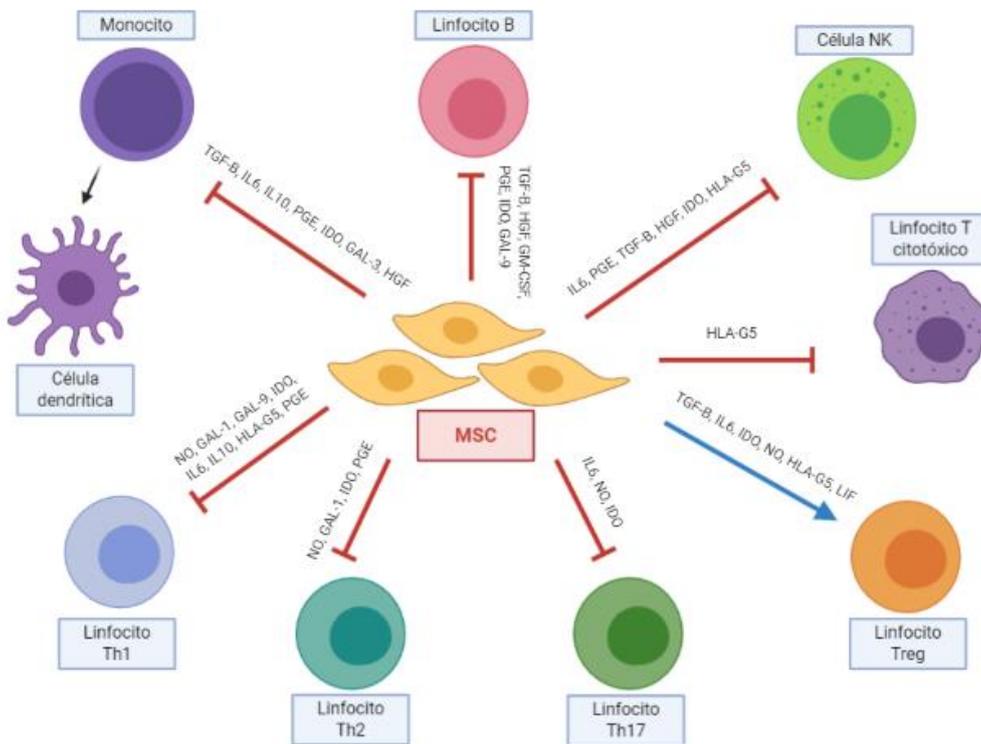


Figura 3. Efectos de las MSC sobre el sistema inmune. Adaptación de Cagliari, Stem Cell Regen Biol (2017) ^[267].

1.5.3 USOS TERAPÉUTICOS EN HEMATOLOGÍA

Como se ha mencionado, y teniendo en cuenta el papel de las MSC en la función hematopoyética, además de sus propiedades inmunomoduladoras, es totalmente esperable que uno de los campos de potencial desarrollo terapéutico de estas células haya sido la hematología. Desde los primeros estudios *in vitro*, progresivamente se ha ido extendiendo su evaluación en estudios *in vivo*, en primer lugar, en modelos preclínicos animales, y su posterior traslación a ensayos clínicos en humanos, destacando (dentro de la hematología) su empleo en las complicaciones más características del Alo-TPH, que constituyen el objeto de esta tesis doctoral.

- Estudios preclínicos en modelos animales:

Los primeros estudios se centraron en la mejoría del injerto, utilizando MSC humanas. Almeida-Porada y colaboradores observaron que el xenotrasplante de MSC humanas en modelos ovinos mejoraba el injerto a largo plazo en la MO de la oveja y se alcanzaba también injerto hematopoyético humano ^[268]. Posteriormente, en modelos murinos se demostró que el cotrasplante de MSC y células madre derivadas de SCU favorecía el injerto de las células hematopoyéticas humanas en la MO de los ratones ^[269]. No solo se demostró la mejoría en el injerto, en modelos murinos, también se reportó una menor tasa de EICR aguda tras la infusión de MSC alogénicas, cuando se administraban de manera precoz y repetida ^[270, 271].

En la mayoría de los estudios con animales se utilizó la radiación como acondicionamiento para el trasplante. Sin embargo, al estudiar la distribución de las MSC después del trasplante en ratones no irradiados y sin ningún tipo de acondicionamiento, se demostró su presencia en MO y bazo, incluso tras un año del trasplante. Estos resultados apoyan el trasplante de MSC sin la necesidad de aplicar una terapia de acondicionamiento o linfodepletiva ^[272].

- Primeros usos en seres humanos:

Los primeros ensayos con infusiones de MSC en humanos datan de finales de los años 90, dentro del contexto de ensayos clínicos fase I, donde se intentaba demostrar la seguridad y la factibilidad de su uso. En 1995 Lazarus fue el primero en reportar la recolección, la expansión y la administración exitosa de células mesenquimales humanas. Obtuvo muestras de MO de 23 pacientes con neoplasias hematológicas en remisión completa, se aislaron las células mononucleadas (CMN) con una mediana de 364×10^6 células, y se expandieron *in vitro* durante 4-7 semanas obteniendo como producto final las MSC (mediana 59×10^6). Posteriormente, se realizó una única infusión intravenosa de MSC autólogas en los 15 pacientes que se cultivaron con éxito, divididos en tres grupos según la dosis administrada (1 , 10 y 50×10^6 MSC), tras 28 a 49 días de la extracción medular. Así, se demostró su tolerancia y la ausencia de efectos adversos ^[273] y un perfil de seguridad favorable que se corroboró en otros estudios ^[274, 275].

- Administración en la EICR aguda:

Tras demostrar que su administración era segura, en los años posteriores los estudios con MSC se centraron en la prevención del desarrollo y el tratamiento de la EICR. El primer trabajo reportado en este ámbito, centrado en la profilaxis, fue en el año 2002, cuando Francesco Frassoni y su equipo realizaron la infusión conjunta de progenitores hematopoyéticos y MSC en 31 trasplantes HLA idénticos en pacientes con leucemia aguda, los que recibían MSC presentaban una incidencia significativamente menor de EICR, tanto aguda como crónica ^[276]. Más tarde, Katarina Le Blanc y sus colaboradores reportaron el primer caso de tratamiento de la EICR aguda con MSC, en un paciente de 9 años con EICR aguda grado IV refractaria a los corticoesteroides, con clínica a nivel intestinal y hepática tras la realización de un Ato-TPH de DnE. Tras la infusión de MSC haploidénticas por vía intravenosa ($2 \times 10^6/\text{kg}$) presentó una respuesta inicial, necesitando una segunda dosis ($1 \times 10^6/\text{kg}$) tras la cual desarrolló una respuesta sostenida ^[277].

El EBMT constituyó un grupo de trabajo que desarrolló un ensayo clínico multicéntrico fase II, en el cual se incorporaron un total de 55 pacientes (30 adultos y 25 niños) que

presentaban EICR aguda refractaria a corticoesteroides, grados II - IV. La mayoría de MSC se obtuvieron de MO alogénica (n=69). La dosis mediana de MSC fue de $1,4 \times 10^6/\text{kg}$. En cuanto al número de dosis, 27 pacientes recibieron 1 dosis, 22 de ellos 2 dosis y los 6 restantes entre 3 y 5 dosis. Más de la mitad de los pacientes obtuvieron una RC (68% de los niños, 43% de los adultos) y 17% presentaron una respuesta parcial (RP) (24% de los niños, 38% de los adultos), siendo la tasa de RG del 72%. La mediana de días desde la primera infusión a la respuesta fue de 18 días (3 - 63). Los pacientes que logran alcanzar una RC presentaron una menor mortalidad relacionada con el trasplante al año, frente a los que presentaban RP o ausencia de respuesta (37% frente 72%, $p=0,002$), además de lograr una mayor tasa de SG (53% frente 16%, $p=0,018$). Cabe destacar, que el grado de compatibilidad HLA del donante de las MSC con el paciente no influyó en la respuesta alcanzada. En cuanto al perfil de seguridad, no se reportaron efectos secundarios durante o en el periodo precoz después de las infusiones [278].

La experiencia de nuestro grupo, que coincide con la del GETH y la red TerCel del Instituto de Salud Carlos III, se inició con un primer ensayo clínico publicado en 2011. En este estudio se incluyeron 10 pacientes con EICR aguda refractaria (grados II - IV). Todos ellos recibieron las MSC tras dos líneas previas. A una dosis media de $1,3 \times 10^6/\text{kg}$, 2 pacientes recibieron una única infusión, 4 pacientes recibieron dos dosis, uno de ellos recibió tres, y 3 pacientes recibieron cuatro infusiones después de haber obtenido una RP a la primera infusión. Un paciente obtuvo una RC (2 dosis), 6 obtuvieron una RP y 3 pacientes no respondieron a la infusión de MSC. Al último seguimiento, 2 pacientes estaban vivos y 8 habían fallecido, 2 de ellos a causa de la EICR aguda y los demás por causas distintas [279].

De lo aprendido en este primer ensayo clínico, se diseñó un segundo estudio basado en el empleo de células alogénicas de un donante alternativo, procedentes de médula ósea y expandidas con lisado plaquetario en lugar de suero fetal o autólogo. Además, se plantearon cuatro dosis secuenciales, para mejorar la tasa de respuestas, pues en el estudio previo y por la dinámica de las células administradas por vía intravenosa, parecía una estrategia adecuada. En este ensayo clínico se analizó la viabilidad, la seguridad y la eficacia de la infusión de 4 dosis secuenciales administradas por vía intravenosa (días 1, 4, 11 y 18) de MSC de MO alogénica, expandidas con lisado de plaquetario, como tratamiento de segunda línea en pacientes con EICR aguda refractaria grave. El ensayo

clínico incluyó a 25 pacientes adultos, de los cuales 18 recibieron las cuatro dosis inicialmente previstas. La mediana de dosis administrada fue de $1,1 \times 10^6/\text{kg}$. La respuesta fue analizada a los 60 días después de la primera infusión, en este momento la RG fue del 71% (46% RC y 25% RP), con un tiempo medio hasta la respuesta de 28 días después de la primera dosis. En el último seguimiento del estudio, 12 de los 17 pacientes que habían alcanzado alguna respuesta, mantenían la misma tras una mediana de seguimiento de 10,3 meses. Cabe destacar, que la tasa de respuestas fue superior en las afectaciones cutáneas (superiores al 80%) y de tracto gastrointestinal (más del 70%) en comparación con las hepáticas, donde solo se observó una tasa del 33%. Además, se demostró una mayor SG en los pacientes que alcanzaban una RC [280].

Posteriormente, el grupo del Hospital Puerta de Hierro publicó los resultados de la experiencia en su centro. Un total de 33 pacientes recibieron MSC para la EICR aguda grave refractaria a esteroides con una mediana de 4 dosis ($1,1 \times 10^6/\text{kg}$). Al día 28, la tasa de RG fue del 84% (con 34% de RC). Los pacientes que lograron alcanzar RC presentaron una SG incrementada en el día 90 (100% frente a 48%, $p=0,006$), y al año (79% frente a 25%, $p=0,002$) [281].

De la misma forma, se han publicado estudios en pacientes pediátricos, donde las respuestas descritas han sido en general superiores. Ball y colaboradores presentaron los resultados de 37 pacientes en edad pediátrica que recibieron infusiones de MSC para EICR aguda refractaria a esteroides de grados III - IV. La tasa de RC fue del 65%, siendo superior en los pacientes que recibieron múltiples dosis de MSC. Además, estos pacientes presentaron una mortalidad relacionada con el trasplante del 17%, frente al 69% en pacientes que no alcanzaron dicha respuesta ($p=0,001$), así como una SG del 65% (frente 0%) tras un seguimiento cercano a los tres años [282].

A lo largo de estos años, múltiples estudios han utilizado la infusión de MSC para tratamiento de la EICR aguda refractaria, con una gran heterogeneidad en sus características ^{Tabla 9}.

Incluso, en el contexto de la profilaxis de la EICR aguda, los estudios mostraron que la coinfusión de MSC con los progenitores hematopoyéticos se asoció con una menor

incidencia de EICR aguda de grados III - IV. Además, demostraron una incidencia reducida de EICR crónica y una tendencia a una menor incidencia de su forma extensa [283-287].

Estudio	N	EICR agudo III-IV	MSC x10 ⁶ /kg	Respuesta día +28	Supervivencia
LeBlanc 2008 [278]	55 mixto	50	1,4	RG: 72% (RC: 54%)	SG 2 años: 35%
Von Bonin 2009 [288]	13 adultos	13	0,9	RG: 45%	SG 257 días: 45%
Lucchini 2010 [289]	11 niños	4	1,2	RG: 71,4% (RC: 23,8%)	SG 8 meses: 73%
Pérez-Simón 2011 [279]	10 adultos	7	1 - 2	RG: 61% (RC: 11%)	SG 2 años: 33%
Prasad 2011 [290]	12 niños	12	2 - 8	RG: 67% (RC: 17%)	SG 2 años: 40%
Herrmann 2012 [291]	19 adultos	19	2	RG: 79% (RC: 47%)	SG 30 meses: 55%
Ball 2013 [282]	37 niños	37	1 - 2	RG: 86,5% (RC: 65%)	SG 3 años: 65%
Introna 2014 [292]	40 mixto	20	1,5	RG: 67,5% (RC: 27,5%)	SG 2 años: 38,6%
Sánchez-Guijo 2014 [280]	25 adultos	16	1,1	RG: 71% (RC: 44%)	SG 1 año: 44%
Kurtzberg 2014 [293]	75 niños	66	2	RG: 61,3%	SG 100 días: 57%
Von Dalowski 2016 [294]	58 adultos	54	0,9	RG: 47% (RC: 9%)	SG 2 años: 16,6%
Maqueda 2017 [281]	33 adultos	33	1,1	RG: 84% (RC: 34%)	SG 1 años: 79%
Dotoli 2017 [295]	46 adultos	46	0,9	RG: 50% (RC: 7%)	SG 2 años: 17,4%
Bader 2018 [296]	69 adultos	66	1 - 2	RG: 82,6% (RC: 31,9%)	SG 6 meses: 71%

Tabla 9. Estudios del uso de MSC en EICR aguda refractaria.

- Administración en la EICR crónica:

En el caso de la EICR crónica existe mucha menor experiencia publicada. Uno de los primeros casos reportados fue el de un paciente con EICR crónica extensa con afectación cutánea liquenoide y hepática leve, sin presentar respuesta a nivel cutánea, pero si con franca mejoría de las pruebas de función hepática [297].

Posteriormente, destacó el trabajo de Zhou, donde el uso de MSC infundidas por vía intraósea en 4 pacientes con EICR crónica esclerodermiforme se siguió de una mejoría de la sintomatología demostrando un buen perfil de seguridad, aunque sin poder objetivarse respuestas contrastadas [298].

Resultados más alentadores en este ámbito fueron los reportados por Weng y su equipo, que publicaron el uso de MSC en 19 pacientes con EICR crónica refractaria, donde observaron respuesta en 14 pacientes (74%), siendo ésta completa en el 34%. Las tasas de respuesta fueron superiores cuando afectación se producía a nivel cutáneo o de la mucosa oral. Destaca en este trabajo la suspensión completa de la inmunosupresión en 5 pacientes, tras una mediana de 324 días desde la administración de las MSC [299].

En el ensayo preliminar de nuestro grupo al que hemos hecho referencia en el apartado anterior, también incluía un subgrupo con EICR crónica. Así, en las mismas condiciones se trataron a 8 pacientes con EICR crónica refractaria, cuatro de ellos como segunda línea y el resto en líneas posteriores. La mitad de los pacientes recibieron una única dosis, 3 recibieron dos dosis y un paciente recibió tres dosis de MSC, con una cantidad media de 2×10^6 /kg. Se obtuvo una RC y 3 RP, las cuales se mantuvieron al menos durante 3 meses en el peor de los casos. Cabe destacar en caso particular del paciente que logró una remisión completa, que en el contexto de la EICR crónica padecía de trombocitopenia severa que se resolvió por completo tras la administración de las MSC [279].

Más reciente, el trabajo del grupo de Granada liderado por Manuel Jurado publicó los resultados de un estudio fase I/II, donde se utilizaron MSC de tejido adiposo añadido al tratamiento estándar con prednisona y CsA en pacientes con EICR moderado-severo. Se incluyeron 14 pacientes, divididos en dos grupos en función de la dosis de 1 o 3×10^6 /kg de MSC. Cuatro pacientes abandonaron el ensayo clínico, y tras 56 semanas de seguimiento 8 pacientes se encontraban en RC y 2 RP, sin diferencias entre los grupos. El tiempo medio para alcanzar la RC fue de 36 semanas. Cabe destacar que en la semana 56 todos los pacientes habían podido suspender el tratamiento con la prednisona, y 9 continuaban con la CsA. Once de 14 pacientes estaban vivos al final del estudio (71%), sin diferencias significativas entre los dos grupos [300].

También se han publicado estudios del uso de MSC con intención profiláctica en la EICR crónica, observándose reducción de la incidencia y severidad de esta en comparación con los grupos control [285, 286, 301].

- Administración en la prevención o tratamiento del injerto pobre o fallo de injerto:

En 2002 Koç reportó en 32 pacientes con neoplasia de mama sometidos a un Auto-TPH una rápida recuperación hematopoyética tras la infusión intravenosa de MSC autólogas. La mediana del tiempo para lograr un recuento absoluto de neutrófilos $>500/\mu\text{L}$ fue de 8 días (6 - 11), y un recuento plaquetario $>20 \times 10^9/\text{L}$ con una mediana de 9 días (4 - 19) [274].

En el contexto del Alo-TPH, el primer ensayo clínico de coinfección de MSC se realizó en trasplante emparentado HLA idéntico. La infusión de las MSC se realizó cuatro horas antes de la infusión de los progenitores. Se trataron 46 pacientes sin observarse complicaciones relacionadas con la infusión, pero en la comparación con las cortes históricas no se observó una reducción del tiempo del injerto, ni reducción de la incidencia de EICR aguda o crónica [275].

El equipo de Ball realizó la infusión conjunta de progenitores hematopoyéticos haploidénticos y MSC. Dichas infusiones se llevaron a cabo en 14 pacientes pediátricos, logrando injerto sostenido en todos ellos, frente al 15% de la corte histórica. Los autores concluyeron que la infusión conjunta de progenitores hematopoyéticos con MSC, podría reducir la incidencia de fallo de injerto [302]. De la misma forma, McMillan y su equipo en el contexto de un ensayo clínico fase I/II realizaron cotrasplante de MSC con progenitores de SCU en 8 niños. La totalidad de los pacientes alcanzaron el injerto de neutrófilos, así como al 75% del plaquetario, datos que reflejaban una ligera mejoría con respecto a la corte histórica [303]. Otro grupo reportó el tratamiento de 13 infantes realizaron la misma infusión conjunta que el ensayo previamente mencionado. En este caso a incidencia acumulada de rechazo del injerto fue favorable al grupo histórico con respecto a de las MSC (3% vs 15%). Pero obtuvieron otras conclusiones reseñables, la incidencia de EICR aguda grado III - IV y de EICR crónica fue de 0% en el grupo de los pacientes tratados con MSC, frente al 26% y 11%, respectivamente, en las cortes históricas [284].

También cabe destacar el trabajo realizado por Baron y sus colaboradores, quienes reflejaron los resultados de un estudio que analizó la coinfección de MSC en Alo-TPH de DnE en 20 pacientes en comparación con una corte histórica. En cuanto al fallo de injerto, no se observaron diferencias significativas frente al grupo histórico. No obstante, se reportó una reducción de la mortalidad relacionado con la EICR aguda al año siendo del 10% en el grupo de MSC, frente al 31% en el grupo histórico ^[283].

De la misma forma, el grupo del Hospital Puerta de Hierro realizó la infusión profiláctica de MSC (dosis 1 - 2 x 10⁶/kg) de MO expandida *ex vivo* en 9 pacientes que realizaban un Alo-TPH de SCU. La administración se realizó inmediatamente después de la infusión de los progenitores hematopoyéticos. Los resultados no evidenciaron diferencias significativas en el injerto, ni en la incidencia de EICR aguda severa ^[304].

El conjunto de estos datos parece indicar que la infusión conjunta de MSC y progenitores hematopoyéticos no presenta un beneficio claro en el injerto. Sin embargo, en algunos estudios si se observó una reducción reseñable de la incidencia de EICR aguda ^[283, 284].

En cuanto al tratamiento del fallo de injerto, en un estudio piloto de Meuleman y su equipo trataron con MSC (dosis 1 x 10⁶/kg) a 6 pacientes con fallo de injerto primario tras el trasplante. Dos de los seis pacientes tratados lograron alcanzar una recuperación hematopoyética después de la infusión de MSC ^[305]. Basándose en este estudio, se reclutaron a 22 pacientes con fallo de injerto primario para ser randomizados en dos grupos, dos dosis de MSC combinadas con SCU o solas. Después de la primera dosis, 7 de 11 pacientes en el grupo MSC alcanzaron respuesta, mientras que 9 de 11 en el grupo de MSC con SCU, con una tasa de RG del 86% tras la segunda dosis, sugiriendo que estas podrían ser dos estrategias potencialmente útiles para el fallo de injerto ^[306].

Debido a las experiencias descritas por su capacidad progenitora sobre el nicho hematopoyético, y como tratamiento de la EICR, posiblemente implicada en la aparición de las citopenias, se sugiere que las MSC podrían ser un tratamiento factible y potencialmente eficaz en el contexto de las citopenias periféricas postrasplante, siendo la experiencia en este ámbito muy limitada. Destacamos en este caso el trabajo muy preliminar realizado por nuestro grupo, en el cual se publicaron por primera vez cuatro pacientes con citopenias periféricas después de la recuperación hematológica completa

tras un Alo-TPH: 3 trombocitopenia y una neutropenia, refractarios a varias líneas terapéuticas. La mayoría de los pacientes recibieron más de una dosis, con una media de MSC de $1 \times 10^6/\text{kg}$. En los cuatro pacientes se observó una recuperación completa de las cifras periféricas ^[307]. En este trabajo de tesis se analizarán los resultados posteriores de nuestro grupo.

- Administración en la cistitis hemorrágica:

La experiencia en este campo es igualmente muy escasa. En la serie más grande publicada, el tratamiento de 7 pacientes con cistitis hemorrágica grados 2 a 4 con MSC a una dosis media de $1 \times 10^6/\text{kg}$ por vía intravenosa. En cinco pacientes (71%), la cistitis hemorrágica respondió de forma completa después de la infusión. La hematuria macroscópica desapareció después de una mediana de 3 días (1 - 14). En los dos pacientes restantes se logró una reducción de las necesidades transfusionales ^[308]. Similares resultados se observaron en otros estudios y reportes de casos ^[309], pero sin ser comprobados dentro de un ensayo clínico.

1.5.4 REGULACIÓN LEGAL DE LA PRODUCCIÓN DE MSC PARA USO CLÍNICO

La administración de MSC, aunque inicialmente se encuadró en el contexto de la terapia celular en el entorno del trasplante hematopoyético de forma similar a otras estrategias como la infusión de linfocitos del donante, fue englobada en la primera década del siglo XXI dentro de la legislación que aplica a los medicamentos de terapia avanzada, donde se incluye la terapia celular, la terapia génica y la ingeniería tisular.

Los principales ámbitos legislativos son ^[310]:

- Ley 30/1979, de 27 de octubre, de extracción y trasplante de órganos establece el marco legislativo por el que se regula la realización de implantes experimentales de órganos, tejidos y células de origen humano.
- Real Decreto 2070/1999 de 30 de diciembre, que desarrolla la ley anterior y el Real Decreto Ley 9/2014, de 4 de julio, sobre las aplicaciones clínicas del uso de tejidos y células en humanos.
- Real Decreto 477/2014, de 13 de junio, por el que se regula la autorización de medicamentos de terapia avanzada de fabricación no industrial (BOE núm. 144, de 14 de junio).
- En Europa, en el Reglamento CE número 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada otorga cierta libertad a los estados para la elaboración de legislaciones propias que permitan o restrinjan el uso de células madre embrionarias humanas, así como la comercialización de fármacos y productos derivados.

En este contexto, como se ha indicado, a partir del Reglamento CE número 1394/2007 se definió como medicamento de terapia celular a los productos celulares que han sido sometidos a manipulación sustancial *in vitro* o bien aquellos que, sin sufrir esta manipulación, se emplean para unas funciones distintas a la que realizan en el organismo.

Al pasar a ser un medicamento, la producción celular a nivel clínico está obligada a hacerse en Unidades de Producción Celular (UPC) que trabajaran con Normas de Correcta Fabricación (GMP del inglés *good manufacturing practice*) y acreditadas por las

autoridades regulatorias (en España la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios). Estas Unidades comenzaron a construirse en los centros asistenciales donde estas células se estaban empleando.

Las normas GMP, se traducen en un listado de requerimientos para las UPC, centradas principalmente en su diseño y construcción, así como en el personal adscrito y la documentación manejada y forma de trabajo. En este contexto La Comisión Europea adoptó la Directiva 2003/94/CE, de 8 de octubre de 2003 de medicamentos y medicamentos en investigación para uso humano. La transposición de la citada Directiva al ordenamiento jurídico español se realizó a través del Real Decreto 2183/2004, de 12 de noviembre, por el que se modifica el Real Decreto 1564/1992, de 18 de diciembre, por el que se desarrolla y regula el régimen de autorización de los laboratorios farmacéuticos e importadores de medicamentos y la garantía de calidad en su fabricación industrial. Estos reales decretos han sido derogados total o parcialmente por el Real Decreto 824/2010, de 25 de junio, por el que se regulan los laboratorios farmacéuticos, los fabricantes de principios activos de uso farmacéutico y el comercio exterior de medicamentos y medicamentos en investigación que, en su capítulo IV, recoge los principios y directrices de las GMP.

Como se ha indicado, las UPC han de estar correctamente acreditadas por la autoridad competente, en nuestro caso por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Han de poseer programas de control de calidad que garantice que los medicamentos producidos son adecuados para el uso al que están destinados.

Puesto que en la mayoría de estos medicamentos de terapia celular no está aprobados para uso clínico, ha de solicitarse a la AEMPS la autorización para su aplicación como productos en investigación (PEI), siempre vinculados al desarrollo de un ensayo clínico por el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos.

- <https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/>

1.5.5 SELECCIÓN DE DONANTES PARA LA PRODUCCIÓN CLÍNICA DE MSC

Con el auge de la terapia con MSC se ha investigado en la búsqueda de las fuentes celulares y los donantes con un mejor perfil que se traduzca en una ventaja clínica, siempre bajo el amparo del Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de Julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.

- Fuentes celulares:

Desde su aislamiento en MO a mediados del siglo pasado, se ha logrado el aislamiento de MSC a partir de múltiples tejidos como SCU ^[311], tejidos fetales ^[312], tejidos placentarios ^[313, 314], pulpa dental, entre otros. La fuente alternativa a la médula ósea más empleada es el tejido adiposo.

Halvorsen aisló por primera vez MSC a partir del estroma del tejido adiposo ^[315]. Posteriormente, Zuc demostró que sus propiedades son muy similares a las MSC aisladas en la MO ^[316], extendiéndose su uso en la terapia celular debido a su disponibilidad.

Las MSC de los distintos tejidos comparten las mismas características, cumpliendo la definición común de MSC ^[244], sin embargo, poseen perfiles de expresión génica diferenciados, así como variaciones en los niveles de producción de citocinas, además de su capacidad de diferenciación en diferentes tejidos ^[317].

- Células autólogas o alogénicas en complicaciones postrasplante:

Aunque en medicina regenerativa el debate entre el uso de células autólogas y alogénicas sigue estando abierto, pues cada una de estas fuentes tiene sus ventajas y desventajas biológicas y logísticas ^[318-320], este debate a la hora de seleccionar uno u otro tipo en el contexto del postrasplante hematopoyético está resuelto.

Dado que el estroma tras el Alo-TPH sigue siendo del receptor ^[321-323], nuestro grupo y otros muchos ha demostrado que las MSC de pacientes con hemopatías malignas son portadoras de alteraciones genómicas incluso ya en el momento del diagnóstico. Así, estas alteraciones se han descrito en pacientes con mieloma múltiple (MM) ^[324-326], leucemia mieloblástica aguda (LMA) ^[327, 328], síndrome mielodisplásico (SMD) ^[329, 330] y aplasia medular ^[331]. Además, diversos estudios ponen de manifiesto el daño en el estroma inducido por diversas terapias. Un estudio demostró una reducción significativa de la expansión de MSC derivadas de pacientes que recibieron quimioterapia a altas dosis (Cy y melfalán) ^[332, 333]. También se han reportado estudios de los efectos deletéreos de la radioterapia sobre las MSC ^[334-336].

Por este motivo, las MSC que se empleen en los programas terapéuticos de terapia celular en el contexto del Alo-TPH han de ser alogénicas.

- Influencia de las características de los donantes:

Ciertos estudios sugieren que las características demográficas y biométricas pueden ser particularmente importantes a la hora de identificar los donantes óptimos de MSC.

Estudios recientes han mostrado que los individuos de mayor edad producen una menor cantidad de MSC, además de presentar un tiempo de duplicación ligeramente mayor. Aun así, se obtienen productos celulares satisfactorios independientemente de la cohorte de edad. Las diferencias significativas se encontraron en relación con el corte de edad de 18 años, y únicamente a partir del tercer pase de cultivo ^[337]. En otro estudio, se comprobó que el aislamiento y la expansión de las MSC de MO presentó una tasa de fracaso mayor en los donantes mayores de 60 años ^[338].

En función del género no se han demostrado diferencias significativas en cuanto a la producción de MSC, presentando tasas de crecimientos insuficientemente similares (hombre 27% y mujeres 28%) en un estudio con 53 sujetos. Si se observó en este estudio, que las donantes producían MSC con una mayor capacidad inmunomoduladora sobre las células T ^[339].

Además, otros estudios revelan que los donantes con un índice de masa corporal (IMC) elevado (>30) presentan una diferenciación osteogénica y adipogénica deteriorada, tasas de proliferación disminuidas, aumento de la senescencia y expresión elevada de genes relacionados con el estrés del retículo endoplásmico, frente a los que presentan IMC normales (<25). Además, la activación de las MSC en donantes con IMC alto expresa niveles más elevados de ARNm de citocinas proinflamatorias, mejoraron notoriamente la proliferación y diferenciación de las células T. Estos resultados indican que la obesidad reduce o elimina los efectos antiinflamatorios de las MSC de tal forma que pueden no ser una fuente celular funcionalmente adecuada ^[340, 341].

También se han evaluado biomarcadores para la identificación de donantes con alto potencial de diferenciación. Se han analizado donantes de MSC en función de la expresión de microARN implicados en la condrogénesis y la homeostasis del cartílago, demostrando que ciertos perfiles específicos pueden tener un valor pronóstico para seleccionar donantes con alto potencial de diferenciación ^[342].

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

Debido a sus propiedades inmunomoduladoras, las MSC han demostrado su eficacia en el tratamiento de la EICR, tanto aguda como crónica, así como en las citopenias postrasplante.

Los estudios realizados han puesto en evidencia una alta tasa de respuestas en los pacientes refractarios a la primera línea terapéutica y, por lo tanto, un aumento de la SG en los pacientes respondedores. La actividad de la UPC del CAUSA, con una serie amplia de pacientes tratados para diversas complicaciones postrasplante, no ha sido analizada en profundidad. El estudio y análisis de la producción celular en el periodo 2009-2018 nos puede permitir conocer la factibilidad y la seguridad de este procedimiento, además de obtener resultados preliminares de eficacia en este contexto.

2.2 OBJETIVOS

- General:

Analizar la actividad de la UPC del CAUSA en el periodo 2009-2018 en el empleo de MSC para el tratamiento de diversas complicaciones del Alo-TPH.

- Específicos:

- Analizar la factibilidad del proceso de producción celular en todos sus apartados, analizando los pormenores de los procedimientos de donación, expansión, caracterización y validación del producto celular.
- Recoger y analizar los detalles de la administración celular, y los efectos secundarios relacionados con la infusión de las MSC que se hayan objetivado en el período de estudio (2009-2018).
- Evaluar las respuestas obtenidas tras el tratamiento celular, tanto en el tratamiento de la EICR aguda como de la EICR crónica, en el tratamiento de las citopenias postrasplante, además de otras complicaciones como la cistitis hemorrágica, y su potencial correlación con otros parámetros clínicos y/o biológicos.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Para la elaboración del presente trabajo se ha realizado un análisis descriptivo retrospectivo sobre la actividad de producción celular de la UPC del CAUSA en el empleo de MSC como uso compasivo, para el tratamiento de complicaciones derivadas del Alo-TPH.

3.1.1 DONANTES

Se ha recopilado la información de 92 donaciones de MO para obtención de MSC realizadas en el periodo comprendido entre febrero de 2010 y noviembre de 2018.

3.1.2 PACIENTES

Se ha hecho una revisión de 126 pacientes (115 adultos y 11 pediátricos) que han recibido MSC para una complicación secundaria al trasplante alogénico desde julio de 2009 hasta diciembre de 2018.

Agrupamos a los pacientes según la complicación subsidiaria de recibir el producto celular:

- EICR aguda: 67 pacientes (60 adultos y 7 pediátricos).
- EICR crónica: 20 pacientes adultos.
- Citopenias periférica post-Alo-TPH: 32 pacientes (30 adultos y 2 pediátricos).
- Cistitis hemorrágica: 7 pacientes (5 adultos y 2 pediátricos).

Para la recogida de los datos se accedió a los programas informatizados del CAUSA, siendo necesario el acceso a los programas de análisis clínicos, microbiología y farmacia, las historias clínicas de los pacientes y donantes, así como a las guías de fabricación de la UPC.

La creación de las bases de realizadas, así como el análisis estadístico de los parámetros demográficos, clínicos y de laboratorio se llevó a cabo mediante los programas estadísticos SPSS Software 22.0 de la empresa IBM (SPSS Inc, Chicago, EEUU) y GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc, California, EEUU).

Las figuras se realizaron mediante la aplicación BioRender (Biorender Inc, Torondo, Canadá).

Las referencias bibliográficas se introdujeron mediante el programa informático EndNote X7 (Clarivate Analytics, Filadelfia, EEUU).

3.2 MÉTODOS

La metodología de la recopilación y análisis de los datos se divide en diversas secciones en función de las fases de recolección, procesamiento y elaboración, y administración final del producto de terapia celular obtenido.

3.2.1 CONSULTA DE SELECCIÓN DEL DONANTE

Se revisaron las historias clínicas de los donantes, con especial interés en el episodio de la consulta previa a la donación, de la cual se recopilaron las siguientes características de los donantes: antecedentes médico-quirúrgicos, el historial gestacional (en caso de las mujeres) y transfusional, así como la toma medicación, el género, la edad, el peso, la talla, la superficie corporal y el índice de masa corporal. Además se revisaron los siguientes parámetros analíticos: hemograma, bioquímica (función renal, ionograma y perfil hepático), coagulación, estudio de grupo sanguíneo, escrutinio de anticuerpos irregulares y test de embarazo (que se realizó si procedía), además de las serologías obligatorias para la donación (virus hepatotropos B y C, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), sífilis y virus linfotrópico humano de células T (HTLV I/II), según especifica el Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.

Todos los donantes firmaron previamente el consentimiento informado para la realización de la extracción de médula ósea para obtención de células mesenquimales de médula ósea de acuerdo con las directrices institucionales y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud de Salamanca.

3.2.2 EXTRACCIÓN DE MÉDULA ÓSEA

En este apartado se ha evaluado la aparición de complicaciones derivadas del procedimiento, su duración y el volumen de médula extraído.

3.2.3 PRODUCCIÓN CELULAR

Los datos analizados en este apartado se han dividido en secciones, según el momento de la producción.

- Cultivo inicial:

En esta fase de la producción se han analizado las siguientes variables:

- Volumen de MO obtenida.
- Cantidad total de CMN presentes en la muestra, y su número por ml. de sangre medular.
- Viabilidad de las CMN.
- Días transcurridos durante el cultivo inicial.
- Número de frascos en los que se han sembrado las CMN, y su superficie de cultivo en cm^2 , obteniendo así la concentración en la que se ha realizado la siembra.
- Cantidad total de MSC obtenidas tras el cultivo inicial, cantidad de MSC obtenidas por cada 10^5 CMN plantadas y por ml de medula inicial procesada.
- Viabilidad de las MSC obtenidas.

- Primer, segundo y tercer pase de cultivo.

En los sucesivos pases de cultivo se han analizado las siguientes variables.

- Días transcurridos entre cada pase de cultivo.
- Cantidad de MSC plantadas tras el pase de cultivo previo.
- Número de factorías en las que se han sembrado las MSC y su superficie de cultivo en cm^2 , obteniendo así la concentración en las que se ha realizado la siembra.
- MSC obtenidas tras finalizar el pase de cultivo.
- MSC teóricas obtenidas, si hubiésemos plantado la cantidad de total de células obtenidas en el cultivo previo, y por ml de médula inicial y por cada 10^5 CMN iniciales.
- Tiempo de duplicación del cultivo celular (*doubling time*). Para dicho cálculo se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Doubling time} = \text{Tiempo (días)} * \text{Log (2)} / \text{Log (MSC finales)} - \text{Log (MSC iniciales)}$$

- <http://www.doubling-time.com/compute.php>
- Dosis de MSC obtenidas tras finalizar el pase de cultivo, y en cuantos lotes se han criopreservado, así como la viabilidad de estas.

Con el objetivo de poder predecir un mejor donante se buscaron relaciones estadísticas entre las características de estos y los datos obtenidos de la producción celular. Las características de los donantes analizadas fueron el género, la edad (punto de corte de mediana edad: 38 años) y el IMC (punto de corte de IMC 25 y 30). Los datos de producción analizados en el cultivo inicial fueron las MSC, las MSC/ml de MO, las MSC por cada 10^5 CMN sembradas en el cultivo inicial. En los sucesivos pases de cultivo se analizaron las MSC teóricas, las MSC teóricas/ml de MO, MSC teóricas por cada 10^5 CMN sembradas en el cultivo inicial y el *doubling time*.

El análisis estadístico se realizó en todos los casos mediante la prueba de U de Mann-Whitney, ya que las variables cuantitativas presentaban una distribución no paramétrica según la prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov.

El concepto de MSC teóricas hace referencia al supuesto caso en el que se realizase la siembra del total de células obtenidas en cada uno de los pases. Parte de estas células deben ser utilizadas para los distintos controles de calidad del producto obtenido (fenotipo, test de esterilidad, viabilidad, estabilidad genética y ensayo de diferenciación), así como para su muestreo y criopreservación cuando está indicado.

También se analizó la factibilidad del procedimiento haciendo una revisión de los productos desechados, evaluando los motivos por los cuales se tuvo que discontinuar la producción.

Para comprender el análisis en este apartado es imprescindible conocer el procedimiento de elaboración del producto celular, el cual se detalla a continuación.

3.2.4 PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE LAS MSC

En el siguiente apartado se resume el protocolo de fabricación del medicamento en investigación, “Células mesenquimales obtenidas de médula ósea de donantes sanos”, según el expediente del PEI 06-076 autorizado por la AEMPS en nuestra Unidad de Producción Celular.

El procedimiento consta, en términos generales, de los siguientes pasos:

1. Extracción y transporte:

La bolsa con el contenido de MO extraída en el quirófano se recibe en la UPC, la cual dispone de certificación de GMP para la fabricación del medicamento.

2. Aislamiento de CMN (día 0):

Para la obtención de CMN a partir de la muestra obtenida se realiza una centrifugación por gradiente de densidad (Ficoll). Las células obtenidas se cuantifican empleando una cámara de Neubauer tras tinción con Azul de Trypan.

3. Establecimiento del cultivo primario:

Estas CMN se siembran en frascos de cultivo celular de 175 cm², a una concentración aproximada de 171.000 células/cm². El medio de cultivo empleado fue el α -MEM (*Minimum Essential Medium*) suplementado con un 5% de lisado plaquetario, 1.000 UI de heparina y 1% penicilina-estreptomicina. El cultivo se mantuvo a una temperatura de 37° C y con una concentración del 5% de CO₂.

Tras un período de entre 7 a 14 días se observó la formación de colonias de células adherentes.

4. Primer pase de cultivo:

Cuando la confluencia celular alcanzó un 70 - 80% de la superficie del frasco de cultivo, las células fueron tripsinizadas y se subcultivaron a una concentración de entre 1.000 - 5.000 células/cm².

Los controles de calidad en este punto fueron los siguientes:

- Morfología: las células debían ser adherentes de aspecto fibroblástico.
- Fenotipo: se comprobó por citometría de flujo la expresión positiva para CD166, CD105, CD44, CD73 y CD90. Asimismo, las células debían de carecer de expresión para CD34, CD45, CD19, CD14 y HLA-DR.
- Esterilidad: el producto debía ser estéril.
- Ausencia de contaminación por *Mycoplasma*.
- Viabilidad: aunque en este punto no es una especificación del producto obtenido, sí que es un dato relevante para futuros pases.

5. Segundo y tercer pase de cultivo:

El procedimiento fue similar al del primer pase. A partir del segundo pase, en caso de obtener un número adecuado de células, parte se recogieron y criopreservaron en dosis de tamaño adecuado para su posterior infusión.

6. Recogida y criopreservación de las MSC:

El medio de criopreservación utilizado y posteriormente infundido fue plasma humano AB suplementado con un 10% de dimetil sulfóxido (DMSO).

Las especificaciones que debía cumplir el producto final fueron las siguientes:

- Morfología: las células debían ser adherentes de aspecto fibroblástico.
- Fenotipo: se comprobó por citometría de flujo la expresión positiva de más del 70% de las células para CD166, CD105, CD44, CD73 y CD90 y negativa para CD34, CD45, CD19, CD14 y HLA-DR.
- Esterilidad: el producto debía ser estéril.

- Ausencia de contaminación por *Mycoplasma*.
- Viabilidad > 70%.
- Estabilidad genética por cariotipo o CGH-Arrays.

3.2.5 ANÁLISIS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Dentro del siguiente apartado se han evaluado las 506 dosis de MSC administradas en los 126 pacientes con complicaciones surgidas tras la realización de un Alo-TPH, tratados entre julio de 2009 y diciembre de 2018.

Para cada uno de los productos administrados se han analizado los siguientes puntos:

- El motivo de la administración: EICR aguda, EICR crónica, citopenias periféricas post-Alo-TPH y cistitis hemorrágica.
- La dosis de MSC infundidas por peso del receptor.
- El número de dosis administradas en cada paciente, así como la pauta de administración: secuencial (días 1, 4, 11 y 18), semanal (días 1, 8, 15 y 22) o sin pauta establecida.
- El número de tandas/ciclos de MSC administradas en cada receptor.
- El análisis de las complicaciones inmediatas, relacionadas con la administración. Cabe destacar, que, según el protocolo de administración, las infusiones se realizaron con premedicación con actocortina 100 mg y dexclorfeniramina 10 mg 30 minutos antes.

3.2.6 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

El análisis de los resultados se realizó según la indicación de la administración.

Para todas las infusiones fueron recogidos los siguientes datos:

- Características del paciente: el género, la fecha de nacimiento, la edad, el peso y la talla.
- Características de la enfermedad hematológica: el diagnóstico, los tratamientos recibidos para la misma y estado de la enfermedad en el momento del trasplante.

- Características relacionadas con el trasplante: el tipo de donante, la compatibilidad HLA, la fuente celular de los progenitores hematopoyéticos, la intensidad del acondicionamiento, así como el esquema utilizado, la inmunosupresión administrada y la fecha de infusión de los progenitores hematopoyéticos.

Los bloques en los que se ha dividido el análisis según la indicación del tratamiento celular fueron los siguientes:

- EICR aguda.
- EICR crónica.
- Citopenias periféricas post-Alo-TPH.
- Cistitis hemorrágica.

ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA

En este punto han sido evaluados los siguientes datos para los 67 pacientes (60 adultos y 7 pediátricos) que han recibido MSC para EICR aguda como uso compasivo entre julio de 2009 y diciembre de 2018.

- Análisis del primer episodio de EICR aguda: la fecha del episodio, el órgano afecto y su grado de afectación, el tratamiento recibido para dicha complicación y la respuesta alcanzada con el tratamiento administrado.
- Episodio de EICR aguda por el cual recibió MSC: la fecha del episodio, el órgano(s) afecto(s) y su grado de extensión, el grado de afectación clínica global, la inmunosupresión recibida en dicho momento, y su dosificación, así como el número de líneas terapéuticas recibidas previamente a las MSC.
- Estado de la enfermedad hematológica previamente a recibir MSC.
- Estado serológico del CMV previamente a recibir MSC.
- Características de la administración de las MSC: la fecha de administración de las MSC, la dosis de MSC infundidas por kg de peso del receptor, el número de dosis administradas en cada paciente y la pauta de administración recibida.

En el análisis de la evolución del paciente tras recibir las MSC se recopilaron los siguientes datos:

- Respuesta alcanzada a nivel de cada órgano afecto, así como la RG lograda. Esta respuesta se evaluó en el día 28 tras recibir la primera dosis del producto celular. Para valorar la respuesta al tratamiento se utilizaron los siguientes criterios:
 - RC: resolución de completa de toda manifestación.
 - RP: mejoría de al menos de un órgano, sin mejoría ni empeoramiento de los demás.
 - Sin respuesta: ausencia de mejoría, pero sin presentar empeoramiento a ningún nivel.
 - Progresión: empeoramiento de al menos un órgano afecto, sin presentar mejoría en otros órganos.

- Reaparición de un nuevo brote de EICR, la fecha de aparición, su extensión, su grado de afectación, y la respuesta a nuevas líneas de tratamiento.
- Documentaciones microbiológicas hasta 6 meses tras la primera dosis de MSC.
- Reactivaciones de CMV hasta 6 meses tras la primera administración de las MSC.
- Hemograma a los 90 días de la infusión del producto celular.
- Estado de la enfermedad hematológica, así como posibles recaídas de la misma y la fecha.
- Fecha de último seguimiento del paciente.
- En caso de éxitus, la causa de este y su fecha.
- Estado de la EICR en el momento en el último seguimiento.

Para evaluar los órganos afectados por la EICR aguda se utilizó la escala de estadiaje descrita en el apartado de introducción, y para catalogar el grado de afectación de global se ha utilizado la clasificación de Glucksberg (1974) con modificaciones de la Conferencia Consenso de 1995, descritos en el apartado de Introducción.

ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR CRÓNICA

En este ámbito, han sido evaluadas las características de los 20 pacientes que han recibido MSC para EICR crónica como uso compasivo, entre julio de 2010 y septiembre de 2018.

En estos pacientes se recogieron los siguientes datos:

- Análisis de posible episodio de EICR aguda previo: la fecha del episodio, el órgano afecto y su grado de afectación, el tratamiento recibido y la respuesta alcanzada con el tratamiento administrado.
- Episodio de EICR crónica por el cual recibió MSC: la fecha del episodio, el órgano(s) afecto(s) y su grado de extensión, el grado de afectación clínica global, el tratamiento inmunosupresor recibiendo, y su dosificación, así como las líneas de tratamientos recibidos previamente a las MSC.
- Estado de la enfermedad hematológica previamente a recibir MSC.
- Estado serológico del CMV previamente a recibir MSC.
- Características de la administración de las MSC: la fecha de administración de las MSC, la dosis de MSC infundidas por kg de peso del receptor, el número de dosis administradas en cada paciente y la pauta de administración recibida.

En el análisis de la evolución del paciente tras recibir las MSC se recopilaron los siguientes datos:

- Respuesta alcanzada de cada órgano afecto, así como la RG.
- Para valorar la respuesta al tratamiento se utilizaron los criterios de *Response Criteria Working Group*:
 - RC: resolución de todas las manifestaciones relacionadas con la EICR crónica. Categoría no aplicable a órganos con daño irreversible.
 - RP: se considera la mejoría de un órgano, sin progresión en cualquier otro. En un órgano específico se evalúa en función de la mejoría sobre la puntuación basal (NIH 2014), considerándose una mejora de 1 o más puntos en una escala de 4 a 7

puntos, o una mejora de 2 o más puntos en una escala de 10-12 puntos. A nivel hepático se requiere la mejoría de al menos el 50% de los valores de bilirrubina total, ALT y FA. En los pacientes con afectación por BO, una mejoría absoluta del FEV1 del 10%.

- Falta de respuesta:
 - Progresión: para la piel, los ojos, el esófago y el tracto GI se considera un empeoramiento de 1 punto o más sobre una escala de 0 a 3. Para los pacientes con afectación pulmonar, un empeoramiento de FEV1 en un 10% o más.
 - Respuesta mixta: presencia de RC o RP en un órgano acompañada de progresión en otro.
 - Sin cambios: los resultados que no cumplen los criterios de RC, RP, progresión o respuesta mixta.

Se analizó la RG del conjunto de la afectación, considerando RC a la resolución completa de toda manifestaciones clínicas, RP a la mejoría de al menos un órgano sin empeoramiento de los demás, y se calificó sin respuesta a la ausencia de mejoría o empeoramiento de la clínica de los órganos afectados.

El estado de la respuesta se evaluó de forma continuada en el período correspondiente a los 90 días posteriores a la administración de la primera infusión de las MSC. En dicha fecha se analizó la terapia actual de inmunosupresores y corticoesteroides, y su dosificación con respecto al inicio de la terapia con MSC.

- Reparación de un nuevo brote de EICR, la fecha de aparición, su extensión, su grado de afectación, y la respuesta a nuevas líneas de tratamiento.
- Documentaciones microbiológicas hasta 6 meses tras la primera dosis de MSC.
- Reactivaciones de CMV hasta 6 meses tras la primera administración de las MSC.
- Hemograma a los 90 días de la infusión del producto celular.
- Estado de la enfermedad hematológica, así como posibles recaídas de la misma y la fecha.

- Fecha de último seguimiento del paciente.
- En caso de éxito, la causa de este y su fecha.
- Estado de la EICR en el momento en el último seguimiento.

Para evaluar el estado de la EICR crónica se empleó la escala de estadiaje y graduación descrita en la clasificación establecida por el *National Institute of Health Consensus Development Project* en 2014, que se detalla en la introducción.

CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE

Se ha recopilado la siguiente información de los 32 pacientes (30 adultos y 2 pediátricos) tratados para esta complicación entre julio de 2008 y de octubre del 2018.

Para ser candidatos a recibir la administración del producto debían cumplir ciertas premisas, basadas en los criterios de inclusión y exclusión del “Ensayo clínico en fase II de tratamiento de citopenias postrasplante alogénico con infusión secuencial de células mesenquimales alogénicas expandidas in vitro”; Código EudraCT: 2013-000534-35; Código NTC: 02104440; Código ensayo: CSM/CIT; Fase II; Promotor: FUCALHH (Fundación Castellano-Leonesa de Hematología y Hemoterapia), entre los que destacan: quimerismo de MO completo en los 28 días previos, haber descartado probables causas secundarias de la citopenia (tóxica, microangiopatía trombótica, enfermedad hematológica activa, infecciones concurrentes como la reactivación del CMV), y presentar al menos una línea celular afectada, considerando citopenia a la hemoglobina <8 gr/dL, los neutrófilos $<1.000/uL$ y las plaquetas $<50 \times 10^9/L$.

En estos pacientes se revisaron los siguientes datos:

- Valoración del injerto tras el Alo-TPH, comprobando la recuperación de las cifras hemoperiféricas del injerto del donante. Fecha de injerto de los neutrófilos ($>500/uL$) y fecha de injerto plaquetar ($>20 \times 10^9/L$).

- Características de las citopenias: línea(s) celular(es) afectadas (hemoglobina, neutrófilos o plaquetas) y los tratamientos (número de líneas) recibidos previamente a las MSC.
- Estado de la enfermedad hematológica previamente a recibir MSC.
- Estado serológico del CMV previamente a recibir MSC.
- Episodios de EICR padecido y su estado de actividad en el momento de recibir el producto celular.
- Características de la administración de las MSC: la fecha de administración de las MSC, la dosis de MSC infundidas por kg de peso del receptor, el número de dosis administradas en cada paciente, el número de dosis administradas en cada paciente y la pauta de administración recibida.

En el análisis de la evolución del paciente tras recibir las MSC se recopilaron los siguientes datos:

- Análisis de las respuestas alcanzadas, las cuales se catalogaron como:
 - RC: hemoglobina >10 gr/dL, neutrófilos >500/uL y plaquetas >50 x 10⁹/L.
 - RP: hemoglobina >8 gr/dL, neutrófilos >1.000/uL y plaquetas >100 x 10⁹/L.
 - Falta de respuesta.

Las respuestas se han evaluado en distintos momentos, durante el transcurso hasta el día 90 de recibir la primera dosis de MSC, en el día 90 y seguimientos posteriores. Se recopilaron las cifras periféricas en los días 30, 60 y 90. Así como el análisis del momento en el cual se alcanzó las RC y RP.

- Reparición de la citopenia, la fecha y la respuesta a nuevas líneas de tratamiento.
- Episodios de EICR, la fecha de aparición, su extensión y su grado de afectación.
- Documentaciones microbiológicas hasta 6 meses tras la primera dosis de MSC.
- Reactivaciones de CMV hasta 6 meses tras la primera administración de las MSC.
- Estado de la enfermedad hematológica, así como posibles recaídas de la misma y la fecha.

- Fecha de último seguimiento del paciente.
- En caso de éxito, la causa de este y su fecha.
- Estado de las cifras hemoperiféricas en el momento en el último seguimiento.

CISTITIS HEMORRÁGICA

Se ha recopilado la siguiente información de los 5 pacientes adultos que recibieron la administración de MSC para esta complicación entre abril de 2012 y junio del 2018.

En estos pacientes se recopilaron los siguientes datos:

- Características de la cistitis hemorrágica: grado de afectación, así como las líneas de tratamientos (número de líneas) recibidos previamente a las MSC.
- Estado de la enfermedad hematológica previamente a recibir MSC.
- Determinación de virus predisponentes en la cistitis hemorrágica antes de recibir las MSC.
- Episodios de EICR padecido y su estado de actividad en el momento de recibir el producto celular.
- Características de la administración de las MSC: la fecha de administración de las MSC, la dosis de MSC infundidas por kg de peso del receptor, el número de dosis administradas en cada paciente, y la pauta de administración recibida.

En el análisis de la evolución del paciente tras recibir las MSC se recopilaron los siguientes datos:

- Análisis de las respuestas alcanzadas tras la administración de MSC, las cuales se catalogaron como:
 - RC: resolución de completa de toda manifestación clínica, en este caso cese de la hematuria y desaparición de los coágulos.
 - RP: mejoría de la clínica con desaparición de los coágulos, pero persistencia de hematuria macroscópica, pero en descenso con respecto al estado inicial.

- Sin respuesta: ausencia de mejoría de las manifestaciones clínicas.

- Episodios de EICR o documentaciones microbiológicas relacionadas con la infusión de MSC.
- Estado de la enfermedad hematológica, así como posibles recaídas de la misma y la fecha.
- Fecha de último seguimiento del paciente.
- En caso de éxitus, la causa de este y su fecha.

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La creación de las bases de datos utilizadas, así como el análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico SPSS Software 22.0 (SPSS Inc, Chicago, EEUU), como habíamos mencionado previamente. mínimo - máximo

En las variables continuas se calcularon mediante la mediana (rango intercuartil).

Para comparar variables cualitativas se utilizó la prueba de chi-cuadrado de Pearson. Las variables cuantitativas se calcularon mediante la prueba U de Mann-Whitney, ya que todas las variables presentaban una distribución no paramétrica según la prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov.

La SG se estimó mediante el método de Kaplan-Meier y la prueba de Log-rank para estimar la significación estadística. Para conocer el riesgo asociado a la supervivencia se empleó la regresión de Cox. Las fechas de episodios de la EICR aguda, la EICR crónica y las citopenias periféricas postrasplante fueron calculadas a partir de la fecha de infusión de progenitores hematopoyéticos hasta la fecha de diagnóstico de cada una de ellas. La SG se calculó a partir de la fecha de la primera infusión de las MSC hasta el último seguimiento o éxito del paciente.

Se censuraron todos los pacientes que no alcanzaron los tiempos marcados para el análisis en cada una de las etiología por las que recibieron las MSC (EICR agudo +28 días, EICR crónico +90 días y citopenias periféricas postrasplante +90 días).

Las curvas de supervivencia se realizaron mediante el programa estadístico GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc, California, EEUU).

Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor de p era $<0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 DONANTES

En el período comprendido entre febrero de 2010 y noviembre de 2018 realizaron 92 donaciones de MO de donantes sanos para este programa de terapias avanzadas, todas ellas fueron procesadas y cultivadas bajo las mismas condiciones de producción, de acuerdo con el PEI 06-076 aprobado por la AEMPS.

4.1.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS DONANTES

El procedimiento de extracción de MO se realizó a un total de 51 varones (55,4%) y 41 mujeres (44,6%). Su mediana de edad fue de 38 años con un rango de 27 a 47.

En cuanto a sus características biométricas, se recopilaron los datos del peso, la talla, la superficie corporal (SC) por el cálculo de *Du Bois* y el índice de masa corporal (IMC), obteniendo los siguientes datos ^{Tabla 10}.

Características biométricas en función del sexo

Parámetro	Peso (kg)	Talla (cm)	SC (cm ²)*	IMC*
Varón	85 (78 -90)	177 (173 - 183)	2,02 (1,94 - 2,10)	26,81 (25,70 - 28,01)
Mujer	65 (58 - 76)	166 (160 - 170)	1,74 (1,65 - 1,84)	22,95 (21,70 - 27,64)
Global	79 (64 - 86)	173 (165 - 178)	1,90 (1,73 - 2,05)	26,30 (22,84 - 27,78)

Tabla 10. Características biométricas de los donantes en función del sexo.

* En 21 pacientes no se pudo recopilar peso y/o talla para el cálculo del IMC.

4.1.2 EXTRACCIÓN DE MÉLULA ÓSEA

Los 92 procesos de extracción realizados tuvieron lugar en el quirófano asignado al Servicio de Hematología para este fin, por parte del equipo de extracción de MO y con el personal de quirófano formado, bajo sedación con propofol y/o midazolam, por parte del Servicio de Anestesiología.

El procedimiento tuvo una mediana de duración de 30 minutos (25 - 35), obteniéndose tras su finalización una mediana de volumen de MO de 95 ml (88 - 100).

En ningún caso se reportó complicaciones durante el procedimiento, ni en las 4 horas posteriores en las cuales el donante estuvo en observación, así como la ausencia de ingreso hospitalario, ni de atención médica tras el alta, aunque todos los donantes son contactados en los 7 días posteriores por el equipo de coordinación de trasplante/terapia celular, no registrándose efectos adversos posteriores.

4.1.3 PRODUCCIÓN CELULAR

En este apartado se van a describir los resultados obtenidos en función de la etapa de producción.

Como se ha indicado, para el análisis de los siguientes datos se utilizó de guía el expediente del PEI autorizado por la AEMPS con número 06-076.

- Aislamiento de CMN:

El volumen medular inicial fue 95 ml (88 - 100), y la mediana de CMN $431,00 \times 10^6$ (285,75 - 665,92), lo que supone una cantidad celular por ml de volumen medular de $4,49 \times 10^6$ /ml (3,11 - 6,79), con una viabilidad de 95% (91 - 98).

A partir de las CMN obtenidas se estableció el cultivo inicial.

- Cultivo inicial:

Las CMN obtenidas en el cultivo inicial se sembraron a una concentración de $0,1750 \times 10^6/\text{cm}^2$ (0,1710 - 0,1800).

Tras 12 días de cultivo (11 - 13), se obtuvieron $51,20 \times 10^6$ (30,25 - 102,00) MSC por donante, siendo $0,60 \times 10^6/\text{ml}$ (0,35 - 1,10) en función del volumen de MO, con una viabilidad del 98% (96 - 100).

Si tenemos como referencia las CSM obtenidas por cada 10^5 MNC plantadas, se obtuvieron $12,29 \times 10^9$ (7,72 - 17,96).

En este punto, una de las expansiones no alcanzó un número suficiente de células como para proseguir el cultivo por lo que tuvo que desecharse según el procedimiento correspondiente aprobado en la UPC.

- Primer pase de cultivo ^{Tabla 11.}

Se analizó el producto de los 91 donantes que pasaron al primer pase de cultivo. Se sembraron $49,00 \times 10^6$ (29,00 - 100,00) MSC a una concentración de $0,0048 \times 10^6/\text{cm}^2$ (0,0025 - 0,0052).

A los 7 días (7 - 9), se obtuvieron $284,00 \times 10^6$ (161,00 - 384,00) MSC con una viabilidad celular del 98% (95 - 100). El *doubling time* fue de 3,28 (2,49 - 4,60) días.

En este pase de cultivo se criopreservaron MSC de 74 donantes, un total de 278 dosis con una cantidad de $63,85 \times 10^6$ (60,00 - 73,25) MSC cada una, aportando cada donante 4 dosis celulares (3 - 4) ^{Tabla 13.} Siete donantes pasaron al siguiente pase de cultivo sin criopreservar material celular

Los 10 donantes no prosiguieron el procedimiento. En 9 de ellos se decidió criopreservar todo el producto celular obtenido y cesar el cultivo. En el restante se tuvo que desechar el producto por crecimiento de colonias de *Staphilococcus sp.* en el cultivo inicial.

- Segundo pase de cultivo ^{Tabla 11:}

En el segundo pase de cultivo se cultivaron células de los 81 donantes restantes. Se plantaron $67,00 \times 10^6$ (63,50 - 93,50) MSC a una concentración de $0,0050 \times 10^6/\text{cm}^2$ (0,0049 - 0,0055).

Tras 7 días (5 - 8) se obtuvieron $237,00 \times 10^6$ (158,10 - 345,00) MSC, con una viabilidad del 98% (95 - 100). El *doubling time* fue de 3,36 (2,70 - 4,76) días.

Tras el segundo pase de cultivo, 73 de los donantes obtuvieron producto para criopreservar, con un total de 252 bolsas con una cantidad de $66,00 \times 10^6$ (60,00 - 76,10) en cada una de ellas, recolectando 4 bolsas por cada donante (2 - 4) ^{Tabla 13.}

Después de finalizar el segundo pase de cultivo 5 donantes pasaron directamente al tercer pase al no obtener suficiente cantidad para criopreservar, 55 donantes no siguieron el procedimiento tras haber decidido no continuar tras recolectar producto, y en 3 de ellos no se obtuvo una cantidad suficiente de producto para recolectar o cultivar (2 habían criopreservado MSC en el pase previo y uno de ellos no se consiguió criopreservar producto en ningún pase).

- Tercer pase de cultivo ^{Tabla 11:}

El tercer pase de cultivo se realizó en muestras de 23 donantes. Se sembró una mediana de $68,00 \times 10^6$ (67,00 - 94,00) MSC a una concentración de $0,0051 \times 10^6/\text{cm}^2$ (0,0050 - 0,0063).

Tras 7 días (4 - 7) se obtuvieron $232,00 \times 10^6$ (159,00 - 315,00) MSC, con una viabilidad del 100% (97 - 100). El *doubling time* fue de 3,95 (2,52 - 6,59) días.

Tras este pase de cultivo se obtuvo un total de 82 bolsas de 23 donantes, 3 (2 - 4) bolsas por cada donante, con una cantidad de MSC por bolsa de $60,00 \times 10^6$ (58,00 - 65,70) ^{Tabla 13.}

Características de los sucesivos pases de cultivo

	Primer pase n=91	Segundo pase n=81	Tercer pase n= 23
Días de cultivo	7 (7 - 9)	7 (5 - 8)	7 (4 - 7)
MSC plantadas	49,00 x 10 ⁶ (29,00 - 100,00)	67,00 x 10 ⁶ (63,50 - 93,50)	68,00 x 10 ⁶ (67,00 - 94,00)
Concentración	0,0048 x 10 ⁶ /cm ² (0,0025 - 0,0052).	0,0048 x 10 ⁶ /cm ² (0,0049 - 0,0055)	0,0051 x 10 ⁶ /cm ² (0,0050 - 0,0063)
MSC obtenidas	284,00 x 10 ⁶ (161,00 - 384,00)	237,00 x 10 ⁶ (158,10 - 345,00)	232,00 x 10 ⁶ (159,00 - 315,00)
Doubling time (días)	3,28 (2,49 - 4,60)	3,36 (2,70 - 4,76)	3,95 (2,52 - 6,59)
Viabilidad	98% (95 - 100)	98% (95 - 100)	100% (97 - 100)

Tabla 11. Características de los sucesivos pases de cultivo.

El número de MSC teóricas (concepto explicado en el apartado de Material y Métodos), MSC teóricas/ml de MO y MSC teóricas por cada 10⁵ CMN sembradas en el cultivo en cada uno de los pases de cultivo están reflejados en la siguiente tabla ^{Tabla 12.}

MSC obtenidas en los sucesivos pases de cultivo

	Primer pase n=91	Segundo pase n=81	Tercer pase n= 23
MSC obtenidas	284,00 x 10 ⁶ (161,00 - 384,00)	237,00 x 10 ⁶ (158,10 - 345,00)	232,00 x 10 ⁶ (159,00 - 315,00)
MSC teóricas	296,91 x 10 ⁶ (175,80 - 408,10)	902,57 x 10 ⁶ (499,60 - 1.605,24)	1.795,36 x 10 ⁶ (944,79 - 5.646,48)
MSC teóricas/ml	3,29 x 10 ⁶ /ml (1,74 - 4,38)	9,91 x 10 ⁶ /ml (5,30 - 16,50)	18,78 x 10 ⁶ /ml (10,50 - 57,37)
MSC teóricas/10⁵ CMN	62,10 x 10 ⁹ (39,40 - 99,00)	205,70 x 10 ⁹ (102,01 - 371,31)	516,20 x 10 ⁹ (350,65 - 891,44)

Tabla 12. MSC obtenidas en los sucesivos pases de cultivo.

- Recolección final:

Tras todo el proceso de producción se obtuvieron 612 bolsas, 4 (2 - 4) por donante, con $65,00 \times 10^6$ (60,00 - 73,25) MSC/bolsa, con una viabilidad del 98% (95 - 100).

Las características de los productos obtenidos en función de cada uno de los pases de cultivo se reflejan en la siguiente tabla ^{Tabla 13}.

De los 92 donantes iniciales, en 89 (96,7%) de ellos se obtuvo al menos una bolsa para criopreservar: 17 (19,1%) en un único pase de cultivo, 63 (70,8%) en dos pases y 9 (10,1%) en los tres pases de cultivo.

De los 3 donantes de los que no se obtuvieron células, en dos de ellos el motivo fue un fallo de producción y en el restante una contaminación microbiológica del cultivo inicial (serán comentados en sus apartados correspondientes).

MSC criopreservadas en cada pase de cultivo

	Primer pase n=91	Segundo pase n=81	Tercer pase n= 23
Donantes recolectan	74	73	23
Bolsas totales	278	252	82
Bolsas/donante	4 (3 - 4)	4 (2 - 4)	3 (2 - 4)
MSC/bolsa	$63,85 \times 10^6$ (60,00 - 73,25)	$66,00 \times 10^6$ (60,00 - 76,10)	$60,00 \times 10^6$ (58,00 - 65,70)
Viabilidad	98% (95 - 100)	98% (95 - 100)	100% (97 - 100)

Tabla 13. MSC criopreservadas en cada pase de cultivo.

- Influencia de las características de los donantes en la producción celular:

Con el objetivo de poder predecir un mejor donante se buscaron relaciones estadísticas entre las características de estos y los datos obtenidos de la producción celular ^{Tabla 14, 15, 16 y 17}.

Cabe destacar que los donantes que lograron criopreservar producto en todos los países de cultivo presentaban un predominio hacia el género masculino (7; 77,8%), y una clara tendencia hacia donantes jóvenes, con una mediana de edad de 29 años (24 - 33).

Influencia de las características de los donantes en la producción celular: cultivo inicial

	Varón (n=51)	Mujer (n=41)	P valor
MSC	59,80 x 10 ⁶	42,60 x 10 ⁶	0,37
MSC/ml	0,66 x 10 ⁶ /ml	0,48 x 10 ⁶ /ml	0,29
MSC/10 ⁵ CMN	12,56 x 10 ⁹	11,64 x 10 ⁹	0,80
	<38 años (n=46)	>38 años (n=46)	
MSC	56,90 x 10 ⁶	43,00 x 10 ⁶	0,07
MSC/ml	0,70 x 10 ⁶ /ml	0,48 x 10 ⁶ /ml	0,07
MSC/10 ⁵ CMN	12,71 x 10 ⁹	10,55 x 10 ⁹	0,03
	IMC<25 (n=28)*	IMC>25 (n=43)*	
MSC	46,95 x 10 ⁶	59,80 x 10 ⁶	0,97
MSC/ml	0,49 x 10 ⁶ /ml	0,66 x 10 ⁶ /ml	0,78
MSC/10 ⁵ CMN	12,24 x 10 ⁹	11,64 x 10 ⁹	0,20
	IMC<30 (n=61)*	IMC>30 (n=10)*	
MSC	60,00 x 10 ⁶	36,30 x 10 ⁶	0,17
MSC/ml	0,66 x 10 ⁶ /ml	0,39 x 10 ⁶ /ml	0,27
MSC/10 ⁵ CMN	12,33 x 10 ⁹	7,86 x 10 ⁹	0,06

Tabla 14. Influencia de las características de los donantes en la producción celular: cultivo inicial.

* En 21 pacientes no se pudo recopilar peso y/o talla para el cálculo del IMC.

Influencia de las características de los donantes en la producción celular: primer pase

	Varón (n=51)	Mujer (n=40)	P valor
MSC teóricas	296,53 x 10 ⁶	314,99 x 10 ⁶	0,85
MSC teóricas/ml	3,22 x 10 ⁶ /ml	3,43 x 10 ⁶ /ml	0,96
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	60,01 x 10 ⁹	73,29 x 10 ⁹	0,34
<i>Doubling time</i>	3,46 días	3,27 x 10 ⁹ /ml	0,68
	<38 años (n=48)	>38 años (n=43)	
MSC teóricas	314,99 x 10 ⁶	289,66 x 10 ⁶	0,54
MSC teóricas/ml	3,50 x 10 ⁶ /ml	2,86 x 10 ⁶ /ml	0,41
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	70,62 x 10 ⁹	55,70 x 10 ⁹	0,32
<i>Doubling time</i>	3,40 días	3,18 días	0,65
	IMC<25 (n=28)*	IMC>25 (n=43)*	
MSC teóricas	296,31 x 10 ⁶	344,32 x 10 ⁶	0,10
MSC teóricas/ml	3,04 x 10 ⁶ /ml	3,91 x 10 ⁶ /ml	0,02
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	63,89 x 10 ⁹	60,81 x 10 ⁹	0,89
<i>Doubling time</i>	3,34 días	3,18 días	0,52
	IMC<30 (n=61)*	IMC>30 (n=10)*	
MSC teóricas	316,77 x 10 ⁶	316,18 x 10 ⁶	0,86
MSC teóricas/ml	3,49 x 10 ⁶ /ml	4,00 x 10 ⁶ /ml	0,47
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	62,10 x 10 ⁹	64,33 x 10 ⁹	0,78
<i>Doubling time</i>	3,42 días	2,83 días	0,38

Tabla 15. Influencia de las características de los donantes en la producción celular: primer pase de cultivo.

* En 21 pacientes no se pudo recopilar peso y/o talla para el cálculo del IMC.

Influencia de las características de los donantes en la producción celular: segundo pase

	Varón (n=47)	Mujer (n=34)	P valor
MSC teóricas	1.106,85 x 10 ⁶	818,69 x 10 ⁶	0,14
MSC teóricas/ml	11,65 x 10 ⁶ /ml	7,63 x 10 ⁶ /ml	0,16
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	242,03 x 10 ⁹	177,83 x 10 ⁹	0,55
<i>Doubling time</i>	3,34 días	3,57 días	0,19
	<38 años (n=45)	>38 años (n=36)	
MSC teóricas	1.117,14 x 10 ⁶	800,53 x 10 ⁶	0,09
MSC teóricas/ml	12,63 x 10 ⁶ /ml	8,01 x 10 ⁶ /ml	0,09
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	287,65 x 10 ⁹	174,52 x 10 ⁹	0,13
<i>Doubling time</i>	3,11 días	3,69 días	0,07
	IMC<25 (n=24)*	IMC>25 (n=10)*	
MSC teóricas	834,66 x 10 ⁶	1.117,14 x 10 ⁶	0,06
MSC teóricas/ml	7,63 x 10 ⁶ /ml	12,90 x 10 ⁶ /ml	0,03
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	199,05 x 10 ⁹	249,50 x 10 ⁹	0,61
<i>Doubling time</i>	3,53 días	3,36 días	0,32
	IMC<30 (n=55)*	IMC>30 (n=10)*	
MSC teóricas	1.034,90 x 10 ⁶	741,25 x 10 ⁶	0,40
MSC teóricas/ml	10,89 x 10 ⁶ /ml	8,90 x 10 ⁶ /ml	0,55
MSC teóricas/10 ⁵ CMN	223,10 x 10 ⁹	177,83 x 10 ⁹	0,69
<i>Doubling time</i>	3,39 días	3,76 días	0,75

Tabla 16. Influencia de las características de los donantes en la producción celular: segundo pase de cultivo.

* En 16 pacientes no se pudo recopilar peso y/o talla para el cálculo del IMC.

Influencia de las características de los donantes en la producción celular: tercer pase

	Varón (n=15)	Mujer (n=8)	P valor
MSC teóricas	1.847,99 x 10 ⁶	1.378,37 x 10 ⁶	0,37
MSC teóricas/ml	20,74 x 10 ⁶ /ml	15,36 x 10 ⁶ /ml	0,26
MSC teóricas/10⁵ CMN	516,20 x 10 ⁹	448,91 x 10 ⁹	0,92
<i>Doubling time</i>	3,78 días	4,18 días	0,97
	<38 años (n=15)	>38 años (n=8)	
MSC teóricas	1.847,99 x 10 ⁶	1.695,82 x 10 ⁶	0,11
MSC teóricas/ml	20,74 x 10 ⁶ /ml	18,60 x 10 ⁶ /ml	0,15
MSC teóricas/10⁵ CMN	555,84 x 10 ⁹	371,45 x 10 ⁹	0,15
<i>Doubling time</i>	4,05 días	3,15 días	0,73
	IMC<25 (n=5)*	IMC>25 (n=11)*	
MSC teóricas	1.596,29 x 10 ⁶	2.963,57 x 10 ⁶	0,23
MSC teóricas/ml	16,92 x 10 ⁶ /ml	31,20 x 10 ⁶ /ml	0,34
MSC teóricas/10⁵ CMN	372,73 x 10 ⁹	516,20 x 10 ⁹	0,95
<i>Doubling time</i>	4,44 días	3,40 días	0,95
	IMC<30 (n=13)*	IMC>30 (n=3)*	
MSC teóricas	1.843,46 x 10 ⁶	1.847,99 x 10 ⁶	0,74
MSC teóricas/ml	19,51 x 10 ⁶ /ml	18,48 x 10 ⁶ /ml	0,64
MSC teóricas/10⁵ CMN	458,95 x 10 ⁹	516,20 x 10 ⁹	0,84
<i>Doubling time</i>	3,40 días	4,05 días	0,74

Tabla 17. Influencia de las características de los donantes en la producción celular: tercer pase de cultivo.

* En 7 pacientes no se pudo recopilar peso y/o talla para el cálculo del IMC.

4.1.4 FALLOS DE PRODUCCIÓN

Únicamente 2 (2,2%) donantes no lograron una expansión celular óptima para obtener producto. En uno de los donantes no se obtuvo suficiente cantidad de MSC para realizar la siembra del primer pase después del cultivo inicial ($1,6 \times 10^6$), y en el otro se cesó el cultivo tras obtener una cifra de MSC insuficiente para continuar los cultivos tras el primer pase, se habían sembrado $15,6 \times 10^6$ y se obtuvieron $10,8 \times 10^6$.

4.1.5 PRODUCTOS DESECHADOS

Cuatro de los productos finales producidos tuvieron que ser desechados por completo (4,3%) por no cumplir con las especificaciones. En dos de ellos se reportaron alteraciones citogenéticas, uno con un 50% de cariotipo triploide y otro con presencia de roturas cromosómicas. En los otros dos donantes se documentaron crecimientos microbiológicos, en uno de ellos un *Staphilococcus sp.* en el cultivo inicial y en el otro el crecimiento de un hongo filamentoso en el único lote criopresevado al finalizar el primer pase.

De la misma forma también se desechó un lote en el cual las determinaciones de la esterilidad del procedimiento fueron comprometidas.

Durante todos los procedimientos se tuvieron que descartar 11 factorías de 636 cm^2 y 6 frascos T-175 cm^2 por motivos técnicos.

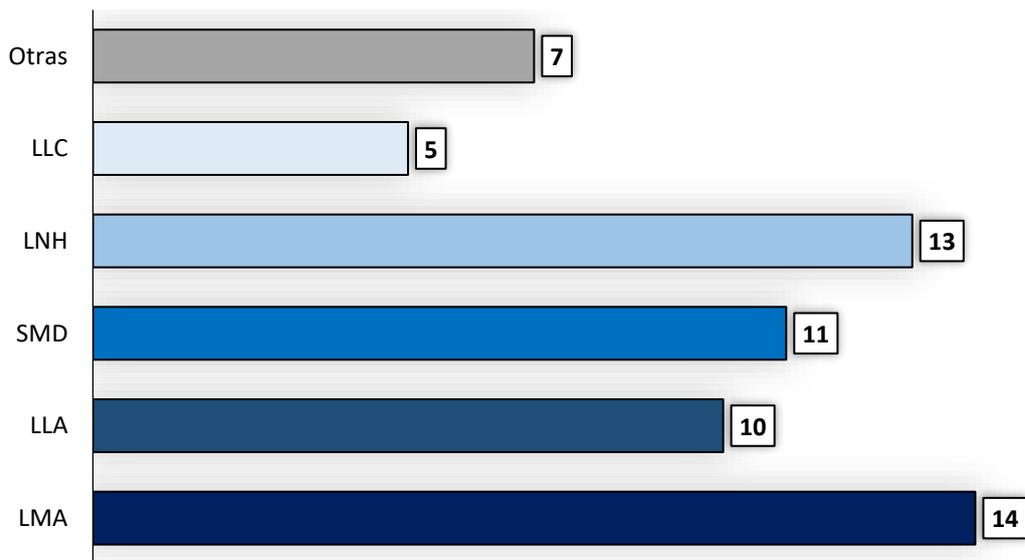
4.2 ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA

Desde julio de 2009 hasta diciembre de 2018 se realizó la infusión de CMS como uso compasivo para un total de 60 pacientes adultos con EICR aguda refractaria.

4.2.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Las infusiones de producto celular se realizaron en 37 varones (61,7%) y 23 mujeres (38,3%), presentando una mediana de edad de 51 años (41 - 58).

Los pacientes presentaban variedad en cuanto a la enfermedad hematológica por la que se realizó el Alo-TPH, predominando las leucemias ^{Gráfica 4}.



Gráfica 4. Distribución de las enfermedades hematológicas en los pacientes tratados con MSC en la EICR aguda.

Otras: Mieloma Múltiple (3); Beta-talasemia (2); Leucemia mieloide crónica (1); Linfoma Hodgkin (1).

4.2.2 CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE

Se reflejan las características relacionadas con el donante y la fuente de progenitores, así como el acondicionamiento y la inmunosupresión empleadas en el Alo-TPH ^{Tabla 18}.

Características del Alo-TPH	N (%)
Estado enfermedad al trasplante	
RC	31 (51,7)
RP	7 (11,7)
Enfermedad activa	22 (36,6)
Tipo de donante	
DnE	36 (60,0)
DE	24 (40,0)
Compatibilidad HLA	
Idéntico	43 (71,7)
Haploidéntico	5 (8,3)
1 Miss-match	11 (18,3)
2 Miss-match	1 (1,7)
Régimen de acondicionamiento	
AMA	28 (46,7)
AIR	32 (53,3)
Fuente de infusión	
SP	58 (96,7)
MO	2 (3,3)
Profilaxis de EICR	
Tacrolimus - MTX	21 (35,0)
Tacrolimus - Rapamicina	25 (41,6)
CsA - MTX	6 (10,0)
Tacrolimus - MMF - Ciclofosfamida	4 (6,7)
Otros	4 (6,7)

Tabla 18. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en la EICR aguda.

4.2.3 EPISODIO DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA

ESTADO DEL PACIENTE PREVIO TRATAMIENTO CON MSC

- Estado de la enfermedad hematológica:

La evaluación de la enfermedad por la que se realizó el Alo-TPH estaba en RC en 51 (86,7%) y 4 (6,7%) presentaban la enfermedad activa previo a recibir el tratamiento con MSC.

En 5 (8,3%) pacientes no fue valorable, ya que no se había revalorado debido a la proximidad con la infusión de los progenitores hematopoyéticos.

- Estado de los inmunosupresores:

Los niveles de inmunosupresores en la determinación previa a la aparición del episodio de EICR aguda por el cual se administraron las MSC se encontraban en rangos óptimos en 31 (51,7%) de los pacientes, en 17 (28,3%) estaban en rango infraterapéutico y en 12 (20,0%) en descenso o sin inmunosupresores.

Cabe destacar que en 2 (3,3%) pacientes se produjo el episodio de EICR aguda tras la administración de ILD.

- Episodio previo de EICR aguda:

Veintinueve (48,3%) pacientes presentaron un episodio de EICR aguda previo a la aparición del brote por el cual recibieron las MSC, separados ambos episodios por una mediana de 71 días (26 - 125).

CARACTERÍSTICAS DEL EPISODIO DE EICR AGUDA

- Fecha de aparición:

El episodio de EICR aguda apareció tras 37 días (23 - 102) desde la infusión de los progenitores hematopoyéticos.

- Número de órganos afectados ^{Tabla 19:}

En 40 (66,7%) pacientes se realizó la infusión de MSC por afectación de un solo órgano, 16 (26,7%) presentaban afectación de dos órganos; y únicamente 4 (6,6%) pacientes presentaron afectación de los tres órganos.

- Órganos afectados ^{Tabla 19:}

El tracto gastrointestinal fue el órgano más afectado, siendo 50 (83,3%) pacientes los que presentaban dicha clínica, 23 (36,7%) tenían afectación cutánea; y 12 (20,0%) hepática.

Cabe destacar, que ningún paciente presentó afectación hepática aislada.

Características del episodio de EICR aguda

	EICR Digestiva	EICR Cutánea	EICR Hepática
1 Órgano n=40	31	9	0
2 Órganos n=16	15	9	8
3 Órganos n=4	4	4	4
Total n=60	50	22	12

Tabla 19. Características clínicas del episodio de la EICR aguda de los pacientes tratados con MSC.

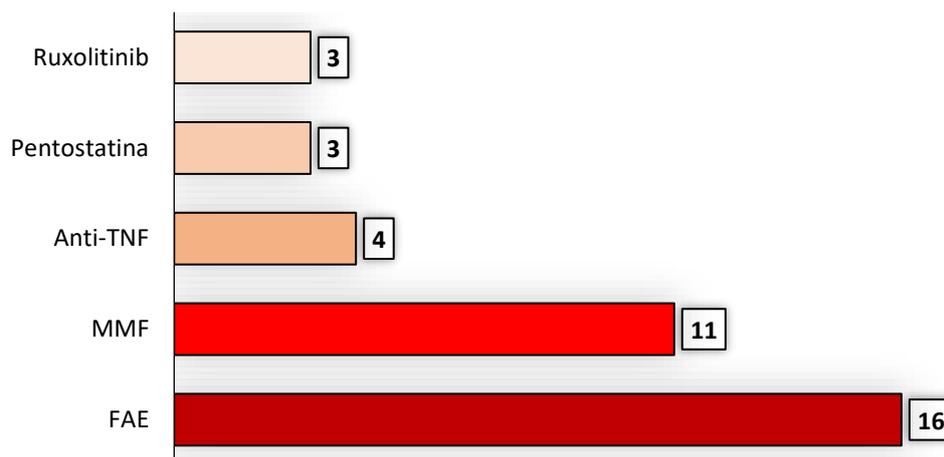
- Afectación global:

La afectación global fue de grado II en 9 (15%) pacientes, grado III en 25 (41,7%) y grado IV en los 26 (43,3%) restantes.

- Líneas terapéuticas previas a las MSC:

Los pacientes recibieron una mediana de 2 (1 - 3) líneas de tratamiento para el episodio de EICR aguda previas a las MSC. En todos los casos los corticoesteroides fueron la primera línea, y 50 (83,3%) pacientes iniciaron a una dosis de 2 mg/kg.

El resto de los tratamientos utilizados se reflejan a continuación ^{Gráfica 5}.



Gráfica 5. Líneas terapéuticas previas al tratamiento con MSC para la EICR aguda

4.2.4 CARACTERÍSTICAS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Las MSC se administraron tras una mediana de 16 días (9 - 32) desde la aparición de la clínica de la EICR aguda.

Se infundió una dosis de MSC de $1,00 \times 10^6$ / kg (0,91 - 1,18) de peso del receptor en cada administración, siendo la pauta más utilizada la secuencial; infundiendo cuatro dosis de MSC en los días 1, 4, 11 y 18, pauta que se siguió en 46 pacientes (76,7%). Dos (3,3%) pacientes recibieron una pauta semanal, y 12 (20,0%) recibieron las infusiones sin una pauta concreta establecida. El número de dosis fue de 4 (1 - 8), recibiendo 4 dosis 42 (70,0%) pacientes.

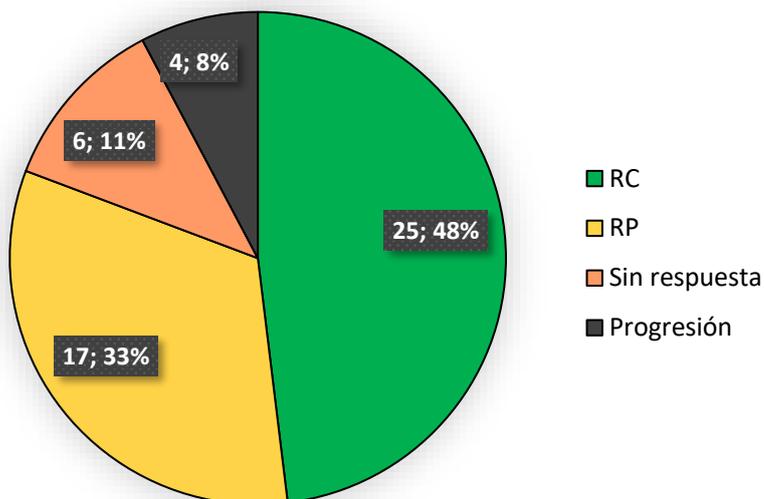
Treinta y cuatro pacientes (56,7%) recibieron todas las dosis de MSC del mismo donante, mientras que 21 (35,0%) las recibieron de dos donantes distintos, y 5 (8,3%) de tres donantes.

En ningún paciente se detectaron complicaciones, ni efectos secundarios relacionados con la infusión de las MSC.

4.2.5 RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Las respuestas se analizaron en el día 28 tras la infusión de las MSC, y fue evaluable en 52 pacientes (86,7%) que alcanzaron dicha fecha. Siete pacientes (11,7%) fallecieron antes del día 28, 5 de ellos como consecuencia de la EICR aguda y en los otros dos restantes debido a otras complicaciones del Alo-TPH habiendo presentado una RP al tratamiento con MSC. El paciente restante no había llegado al día 28 de seguimiento al cerrar el análisis en diciembre de 2018, pero cabe destacar que había alcanzado RC tras recibir 4 dosis con MSC.

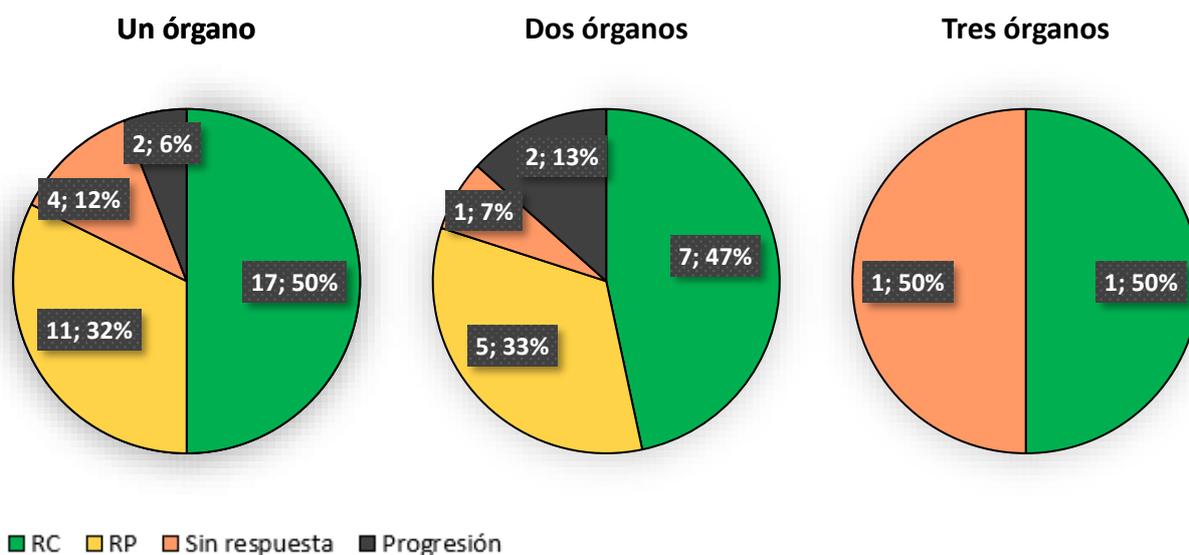
Al analizar las respuestas en el día +28 se observó una tasa de RG de 42/52 (80,8%), siendo de ellas 25 (48,1%) RC y 17 (32,7%) RP. En ese momento 7 (11,5%) pacientes no habían respondido y 4 (7,7%) progresaron clínicamente ^{Gráfica 6}.



Gráfica 6. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC para la EICR aguda.

- Tasa de respuesta en función del número de órganos afectados:

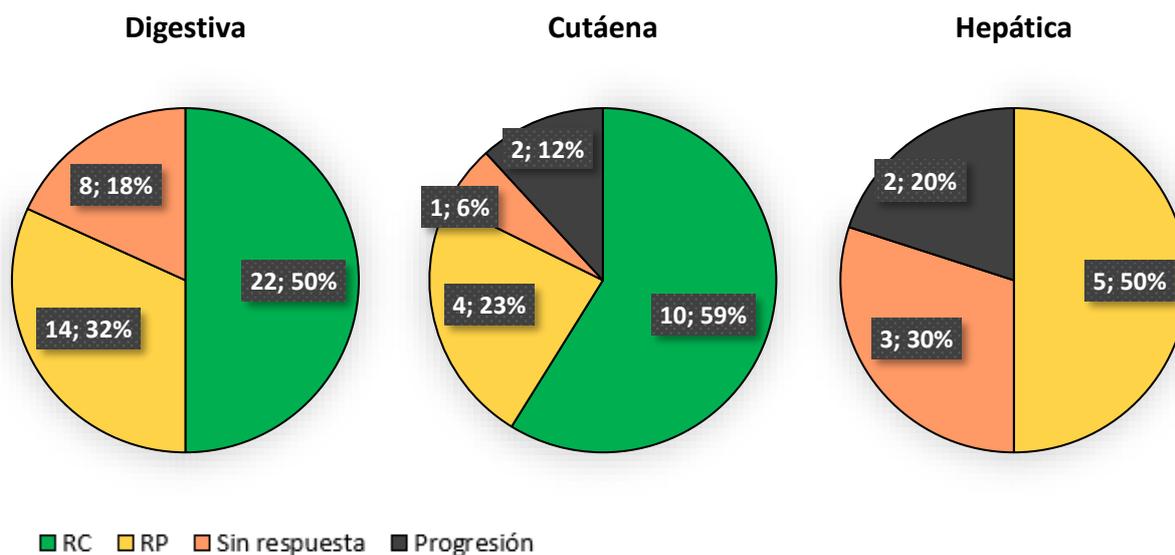
La tasa de RG fue inferior cuanto mayor fue el número de órganos afectados (82%, 80% y 50%); siendo estas similares en función de la RC (50%, 47% y 50%) Gráfica 7.



Gráfica 7. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en función del número de órganos.

- Tasa de respuestas en función del órgano afecto:

Al analizar las respuestas en función del órgano afectado comprobamos que la tasa de RG en el tubo digestivo y en la afectación cutánea es de 82% en ambas, siendo la tasa de RC ligeramente superior en la cutánea (59% frente 50%). En cambio, en las afectaciones hepáticas no se apreció ninguna RC, pero si un 50% de pacientes sin respuesta ^{Gráfica 8}.



Gráfica 8. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en función del órgano.

- Tasa de respuestas en función del grado global de EICR:

En función de grado de afectación global de la EICR aguda, se ha apreciado que a mayor grado de afectación se observa un menor número de RG, así como RC ^{Gráfica 9}.

- Tratamientos concomitantes a las MSC:

De los 42 pacientes que habían obtenido algún tipo respuesta tras la administración de las MSC comprobamos que 32 (76,2%) respondieron a la administración de MSC sin otro tratamiento concomitante, por 10 pacientes que si tenían asociada otra terapia (7 con MMF y/o FAE).

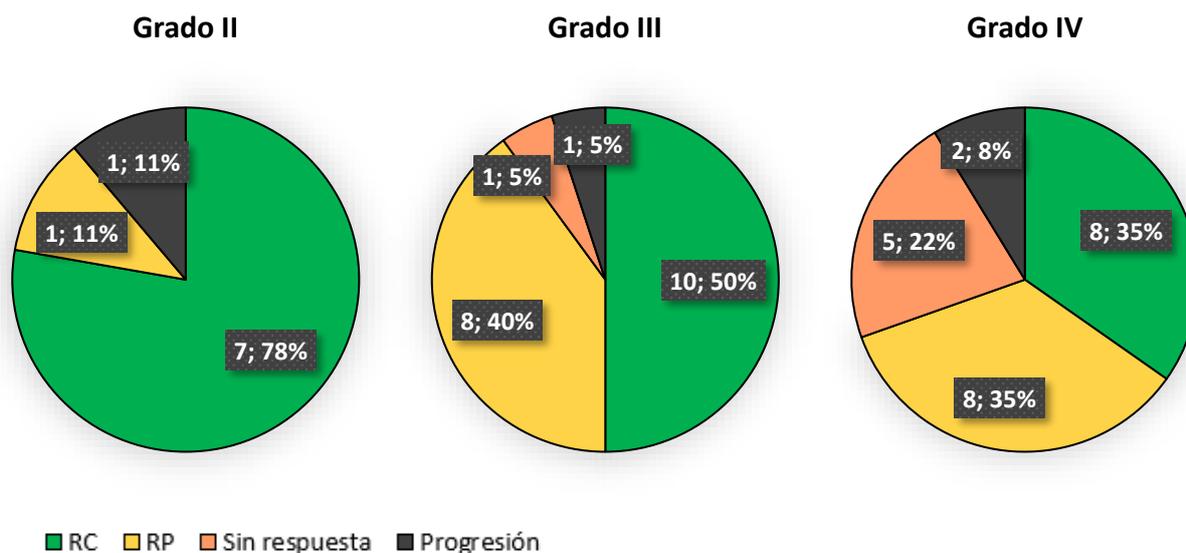
- Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta:

Se analizaron distintos parámetros relacionados con el paciente y el trasplante, y su correlación con el alcanzar o no RC a la administración con MSC en el día +28 tras la administración de la primera dosis ^{Tabla 20}.

Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta

	RC (n=25)	No RC (n=27)	P valor
Edad			
<40 años	8	6	0,06
40 - 60 años	10	19	
> 60 años	7	2	
Género			
Hombre	16	16	0,78
Mujer	9	11	
Estado enfermedad al trasplante			
RC	8	16	0,12
RP	3	3	
Enfermedad activa	14	8	
Tipo de donante			
DE	7	14	0,09
DnE	18	13	
Compatibilidad HLA			
Idéntico	19	19	0,22
MissMatch	6	5	
Haploidéntico	0	3	
Acondicionamiento			
AMA	9	18	0,03
AIR	16	9	
Grado global EICR aguda			
Grado II	7	2	0,08
Grado III	10	10	
Grado IV	8	15	

Tabla 20. Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta a las MSC en la EICR aguda.



Gráfica 9. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en función del grado de afectación global.

- Reaparición de un nuevo episodio de EICR aguda:

Tras una mediana de 64 días (43 - 109) 21 (50% de los que habían alcanzado algún grado de respuesta) pacientes padecieron un nuevo brote de EICR aguda. Al último seguimiento 9 de ellos habían fallecido, estando con la EICR aguda activa en el momento del éxitus, siendo la causa de este.

En estos pacientes que sufrieron un rebrote de la EICR aguda, en 8 (15,4%) se empleó de nuevo como línea terapéutica las MSC.

Se trata de 5 (62,5%) varones y 3 (37,5%) mujeres con una mediana de edad de 49 años (25 - 56) que recibieron el primer tratamiento con MSC por una afectación de la EICR aguda grave (7 con afectación grado III - IV), predominantemente con clínica del tracto digestivo (7). Tras la primera tanda de MSC todos ellos alcanzaron algún tipo de respuesta (3 RC y 5 RP). Tras una mediana de 76 días (48 - 128) reapareció clínica compatible con EICR aguda. En 5 de ellos se administró una segunda tanda de MSC como primera opción en la recaída de la EICR aguda (en uno de ellos asociada a MMF), los otros 3 recibieron otras líneas antes de la segunda tanda de MSC (uno ruxolitinib, otro infliximab y el tercero varias líneas entre las que se incluyen la FAE, PUVA y MMF).

En este subgrupo, el tiempo mediano entre ambas tandas de MSC fue de 96 días (55 - 161). En la segunda tanda, todos ellos recibieron 4 dosis de MSC con una pauta secuencial, a excepción de un paciente que recibió 3 dosis. Las características del nuevo episodio de EICR aguda por el que se administraron las MSC se describen a continuación

Tabla 21

Cabe destacar, que los pacientes que lograron RC con la segunda tanda de MSC permanecían vivos en el último seguimiento, frente a los otros que habían fallecido, siendo el precipitante del éxitus la EICR aguda activa en 4 de ellos.

Segunda tanda de MSC

EICR 1ª MSC	Respuesta MSC EICR 1ª MSC	EICR 2ª MSC	Respuesta MSC EICR 2ª MSC	Éxitus
Digestiva III	RC	Digestiva II	RC	No
Digestiva IV	RC	Digestiva IV	RP	* Si
Digestiva III Cutánea IV	RP	Digestiva IV	RC	No
Cutánea III	RP	Digestiva IV Cutánea IV	Sin respuesta	* Si
Digestiva III	RP	Digestiva IV	Sin respuesta	Si
Digestiva IV	RP	Digestiva IV	RP	* Si
Digestiva IV	RP	Digestiva IV	Sin respuesta	* Si
Digestiva III	RC	Digestiva IV Cutánea IV	RC	No

Tabla 21. Característica del episodio de la EICR aguda de la segunda tanda con MSC.

* Éxitus a causa de la EICR aguda.

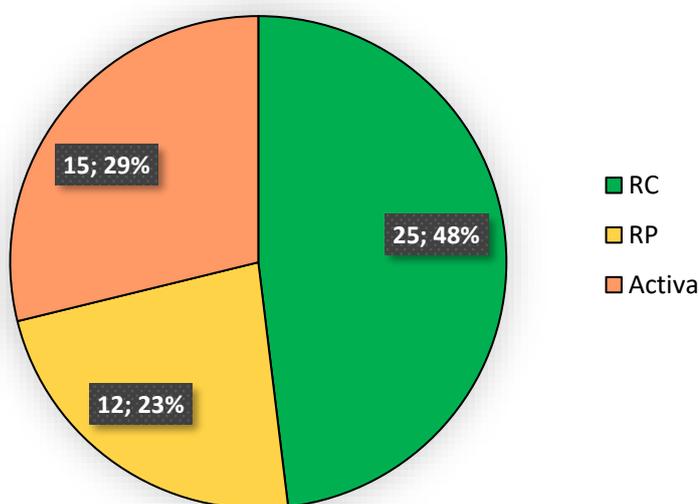
- Último seguimiento:

Tras 220 días (84 - 998) 37 (71,1%) pacientes habían fallecido, presentando EICR aguda activa en 21 (40,4%), siendo esta la causa precipitante del éxitus.

La tasa de respuestas al último seguimiento se aprecia en la siguiente gráfica ^{Gráfica 10}.

Es importante destacar que los pacientes que no respondieron inicialmente a la MSC (10), los que padecieron una recaída de EICR aguda (21), así como los que desarrollaron EICR crónica (13) siguieron recibiendo líneas de tratamiento adicionales para la EICR, por lo que estos datos de respuesta al último seguimiento no reflejan únicamente las respuestas a las MSC.

Doce pacientes (23,1%) mantenían la respuesta alcanzada, 8 pacientes (5 RC y 3 RP) tras la primera tanda de MSC; y 4 (3 RC y 1 RP) tras la segunda tanda, sin necesidad de más líneas de tratamiento.



Gráfica 10. Tasa de respuesta en la EICR aguda en el último seguimiento.

Al analizar el estado de los pacientes en el último seguimiento según la respuesta alcanzada en el día 28 de la infusión de las MSC comprobamos que prácticamente todos los pacientes que no alcanzaron la RC habían fallecido, frente a la mitad del grupo que si alcanzaron dicha respuesta ^{Tabla 22}.

Último seguimiento en función de la respuesta día +28

Respuesta día 28	Último seguimiento	Porcentaje (%)
RC n=25	12 vivos	48
	13 éxitus (4 EICR aguda activa)	52
RP n=17	1 vivo	6
	16 éxitus (10 EICR aguda activa)	94
Sin respuesta / Progresión n=10	2 vivos	20
	8 éxitus (47 EICR aguda activa)	80

Tabla 22. Estado del paciente en el último seguimiento en función de la respuesta a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.

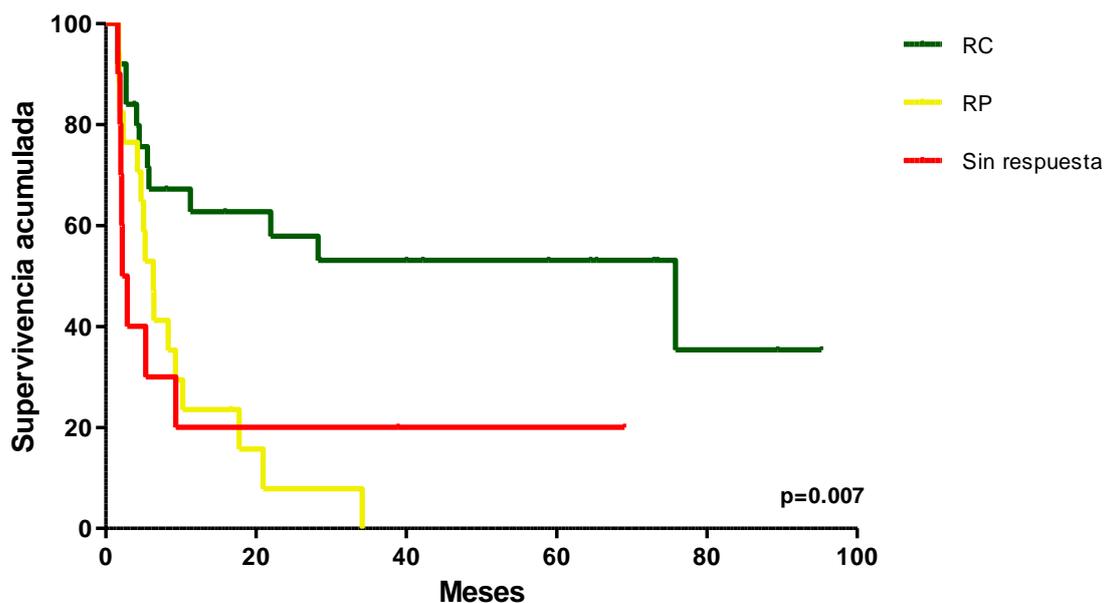
- Análisis de la supervivencia:

Al analizar la SG en función del grado de respuesta en el día 28 tras el tratamiento con MSC se observó que los pacientes que alcanzaban RC presentaban una mayor SG, frente a los que solamente lograban RP o falta de respuesta ^{Tabla 23, Gráfica 11.}

SG en función de la respuesta alcanzada +28 días

Grupo	N	N eventos	Mediana (IC 95%)	Sv 12 meses	Sv 24 meses	Sv 36 meses	P valor
RC	25	13	28,23 (0,00 - 76,26)	0,58	0,49	0,49	0,007
RP	17	16	6,29 (4,44 - 8,15)	0,24	0,00	0,00	
Sin respuesta	10	8	2,20 (1,09 - 3,31)	0,20	0,20	0,20	

Tabla 23. Supervivencia global en función de la respuesta alcanzada a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.



Gráfica 11. Supervivencia global en función de la respuesta alcanzada a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.

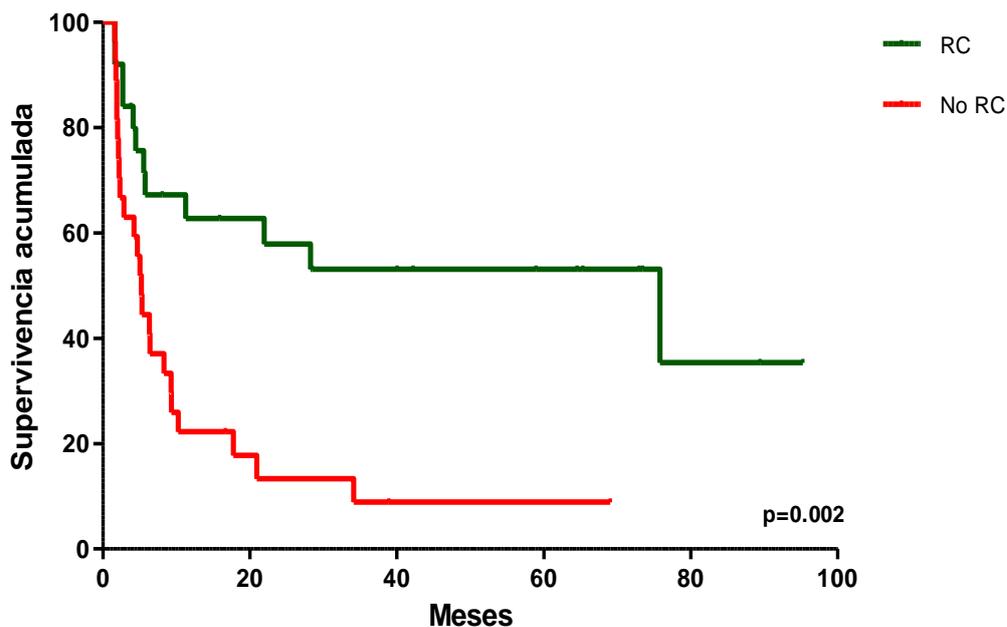
Los pacientes que alcanzaron RP y los que no lograron respuesta alguna asociaron de manera significativa una menor SG, con una HR de 2,98 (IC 95%, 1,38 - 6,45; p=0,007) y de 2,99 (IC 95%, 1,22 - 7,39; p=0,007) frente a los que alcanzaron RC, respectivamente.

Dichas diferencias se apreciaron de forma más notoria cuando se analizó de forma independiente a los pacientes que habían alcanzado RC frente a los que no la lograron, las cuales demostraban un claro beneficio en los pacientes que alcanzaban la RC en el día +28 tras recibir las MSC Tabla 24, Gráfica 12.

SG en función de la respuesta alcanzada (RC vs no RC) +28 días

Grupo	N	N eventos	Mediana (IC 95%)	Sv 12 meses	Sv 24 meses	Sv 36 meses	P valor
RC	25	13	28,23 (0,00 - 76,26)	0,58	0,49	0,49	0,002
No RC	27	24	5,21 (4,16 - 6,27)	0,22	0,13	0,09	

Tabla 24. Supervivencia global en función de la respuesta (RC vs no RC) a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.



Gráfica 12. Supervivencia global en función de la respuesta (RC vs no RC) a las MSC en el día +28 en la EICR aguda.

Los pacientes que no alcanzaron RC presentaron de manera significativa una menor SG con una HR 2,99 (IC 95%, 1,47 - 6,08; $p=0,002$).

4.2.6 EVOLUCIÓN DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

- Complicaciones infecciosas:

Las documentaciones microbiológicas en los 6 meses posteriores a la infusión de las MSC se presentaron en 42 (80,8%) pacientes y todos ellos estaban con tratamiento con inmunosupresores y EICR activa.

Los crecimientos bacterianos más frecuentes fueron el crecimiento de *Staphylococcus coagulasa negativo* y enterobacterias (*Klebsiella*, *Enterobacter* y *Escherichia*). Se documentaron 8 (15,4%) infecciones fúngicas sistémicas, siendo la más frecuente la determinación de *Aspergillus* (4). En 11 (21,2%) pacientes se confirmó la replicación de CMV tras 33 días (8 - 126), cuando previamente era negativa.

- Estado de la enfermedad hematológica:

En 5 (9,6%) pacientes reapareció la enfermedad hematológica tras la administración de MSC, tras una mediana de 99 días (42 - 1101) desde la infusión. Cuatro se encontraban en RC en la reevaluación previa al tratamiento con la terapia celular, el otro paciente todavía no había sido evaluado debido a la cercanía a la infusión de los progenitores.

En ninguno de caso se puede relacionar la recaída de la enfermedad con la infusión del producto, ya que se trataban de pacientes con enfermedades de alto riesgo de recaída y mal pronóstico ^{Tabla 25}.

Recaída de la enfermedad hematológica tras MSC

Enfermedad hematológica	Motivo de la recaída	Día de recaída tras MSC
Leucemia bifenotípica	Alto riesgo citogenético	42
LNH Burkitt	Enfermedad activa al TPH	43
LLA	Enfermedad activa al TPH	99
LMA	Enfermedad activa al TPH	364
LLA	Alto riesgo	1839

Tabla 25. Característica de la enfermedad hematológica que ha recaído tras la infusión con MSC en la EICR aguda.

- Cifras hemoperiféricas a los 90 días:

Las cifras hemoperiféricas a los 90 días tras recibir la infusión de las MSC fueron las siguientes: plaquetas $87 \times 10^9/L$ (41 - 178), neutrófilos 3.250/uL (1.990 - 5.422) y hemoglobina 10,0 gr/dL (9,1 - 11,1).

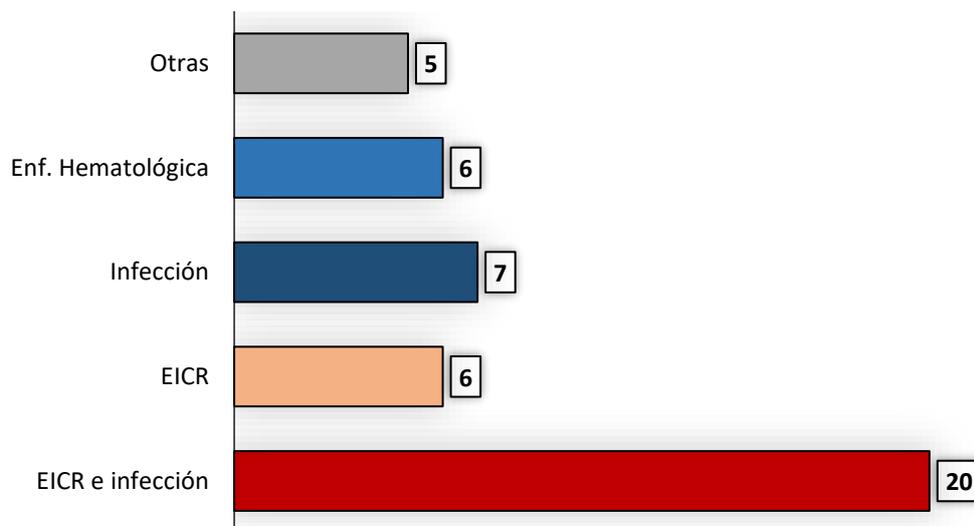
- Ingresos hospitalarios:

Durante el primer año tras la infusión de las MSC 49 (94,2%) de los pacientes precisaron ingreso hospitalario, siendo el motivo más frecuentes de ingreso un nuevo brote de EICR aguda, seguida de infecciones aisladas o concomitantes a la EICR.

- Éxitus:

Al último seguimiento, del total de pacientes que recibieron MSC para la EICR aguda refractaria, 44 (73,3%) habían fallecido tras 125 días (52 - 283) desde la infusión, 7 de ellos de forma previa al día 28 del análisis.

El motivo del éxitus más frecuente fue la presencia de EICR activa en más de la mitad de los casos, como se muestra en la gráfica siguiente ^{Gráfica 13}.



Gráfica 13. Motivo de éxitus de los pacientes tratados con MSC en la EICR aguda.

Otras: Diátesis hemorrágica (2), Infarto agudo de miocardio, Síndrome de obstrucción sinusoidal

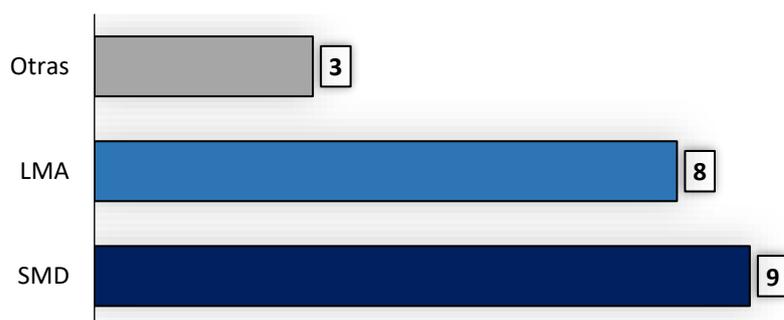
4.3 ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR CRÓNICA

Desde julio de 2010 hasta septiembre de 2018 se administraron MSC como uso compasivo en 20 pacientes adultos con EICR crónica.

4.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Las MSC se administraron en un total de 13 varones (65,0%) y 7 mujeres (35,0%), con una mediana de edad de 50 años (48 - 62).

La enfermedad hematológica por la que se realizó el Alo-TPH fueron predominantemente SMD y LMA. Se representan en el gráfico siguiente ^{Gráfica 14}.



Gráfica 14. Distribución de las enfermedades hematológicas en los pacientes tratados con MSC en la EICR crónica.

Otros: Linfoma no Hodgkin (x1), Leucemia linfática crónica (x1) y Aplasia medular (x1).

4.3.2 CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE

En la siguiente tabla se reflejan las características relacionadas con el donante y la fuente de progenitores, así como el acondicionamiento y la inmunosupresión empleadas en el Alo-TPH ^{Tabla 26}.

Características del Alo-TPH	N (%)
Estado enfermedad al trasplante	
RC	10 (50,0)
RP	2 (10,0)
Enfermedad activa	8 (40,0)
Tipo de donante	
DnE	10 (50,0)
DE	10 (50,0)
Compatibilidad HLA	
Idéntico	18 (90,0)
1 Miss-match	2 (10,0)
Régimen de acondicionamiento	
AMA	9 (45,0)
AIR	11 (55,0)
Fuente de infusión	
SP	19 (95,0)
MO	1 (5,0)
Profilaxis de EICR	
Tacrolimus - MTX	6 (30,0)
Tacrolimus - Rapamicina	8 (40,0)
CsA - MTX	5 (25,0)
Otros	1 (5,0)

Tabla 26. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en la EICR crónica.

4.3.3 EPISODIO DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR CRÓNICA

ESTADO DEL PACIENTE PREVIO TRATAMIENTO CON MSC

- Estado de la enfermedad hematológica:

En la reevaluación de la enfermedad hematológica previo a recibir la infusión con MSC la totalidad de los pacientes de encontraban en RC con quimerismo de MO completo.

- Estado de los inmunosupresores:

En el momento de la administración de las MSC 15 (75,0%) pacientes estaban recibiendo tratamiento con algún inmunosupresor sistémico (8 rapamicina, 5 tacrólimus y 2 CsA), solamente estando 5 sin ellos.

- Episodio de EICR aguda previo:

Dieciséis pacientes (80,0%) fueron diagnosticados de un episodio de EICR aguda tras una mediana de 36 días (6 - 77) desde el Alo-TPH. En su gran mayoría afectaciones digestivas grados I - II (15 pacientes), siendo las afectaciones globales de grados II - III. Todos los pacientes alcanzaron RC de la clínica con tratamientos corticoideos tópicos y/o sistémicos.

CARACTERÍSTICAS DEL EPISODIO DE EICR CRÓNICA

La dificultad de la valoración de la clínica de la EICR crónica reside en la recogida de datos de forma retrospectiva, lo que limita adecuar la situación de los pacientes a las escalas validadas para la caracterización y graduación de la clínica.

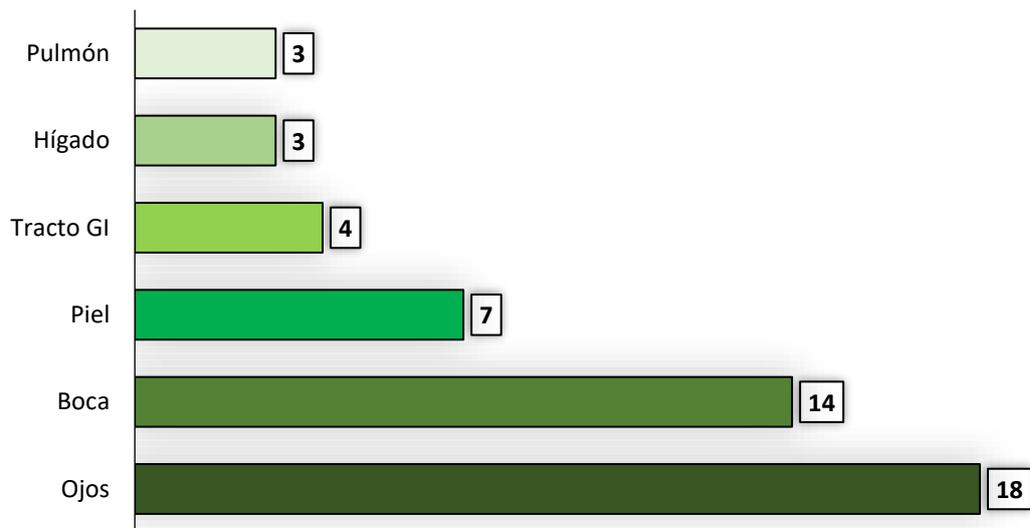
- Fecha de aparición:

El episodio de EICR crónica apareció tras 332 días (246 - 574) desde la infusión de los progenitores hematopoyéticos.

- Órganos afectados:

En función de la clínica del órgano afectado por la EICR crónica se clasificó según el NIH 2014 ^{Gráfica 15}.

Únicamente 3 pacientes padecían afectación de un solo órgano en el momento de recibir las MSC (2 afectaciones oculares y 1 de la mucosa oral), el resto de los pacientes padecían afectación de varios órganos a la vez: 2 órganos (7, 35%), 3 órganos (8, 40%) y más de 3 órganos (2, 10%).



Gráfica 15. Características clínicas de la EICR crónica según el NIH 2014 en los pacientes tratados con MSC.

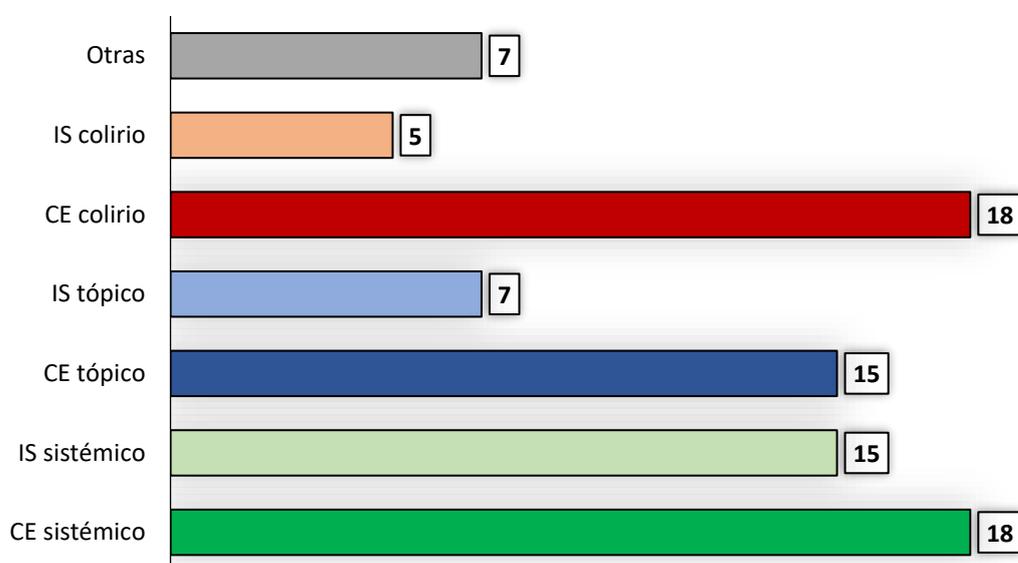
- Afectación global:

Según la gradación del NIH la afectación global fue moderada en 9 (45,0%) de los pacientes y grave en 11 (55,0%). No se llegó a realizar ninguna infusión con MSC afectaciones leves.

- Líneas terapéuticas previas a las MSC:

A la hora de evaluar las líneas de tratamientos que han recibido los pacientes, los hemos agrupado en sistémicos, tópicos y colirios, evaluando si su principio activo era corticoesteroide o inmunosupresión, además de otro tipo de líneas terapéuticas ^{Gráfica 16}.

Recibieron una mediana de 4 (3 - 4) líneas de tratamientos previas a las MSC, habiendo concomitancia de varias líneas de tratamiento en todos los pacientes.



Gráfica 16. Líneas terapéuticas para la EICR crónica previas al tratamiento con MSC.

Otros: Imatinib (1), Ruxolitinib (1), Rituximab (1), BO (3); tratamiento específico para la bronquiolitis obliterante (inhaladores, corticoides, Inhibidor de leucotrienos, azitromicina), FAE (1); fotoaféresis extracorpórea.

4.3.4 ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Los pacientes recibieron la administración tras una mediana de 352 días (106 - 1092) desde la aparición de la clínica de la EICR crónica. Se administró una dosis de MSC de $1,10 \times 10^6 / \text{kg}$ (0,95 - 1,19) de peso del receptor en cada infusión. En cuanto a la pauta de administración la más usada fue la secuencial, pauta recibida por 10 pacientes (50,0%), 6 (30,0%) pacientes recibieron una pauta semanal, y 4 (20,0%) recibieron las infusiones sin

una pauta establecida. La mediana de número de dosis fue de 4 (2 - 4), recibiendo 4 dosis 17 (85,0%) pacientes.

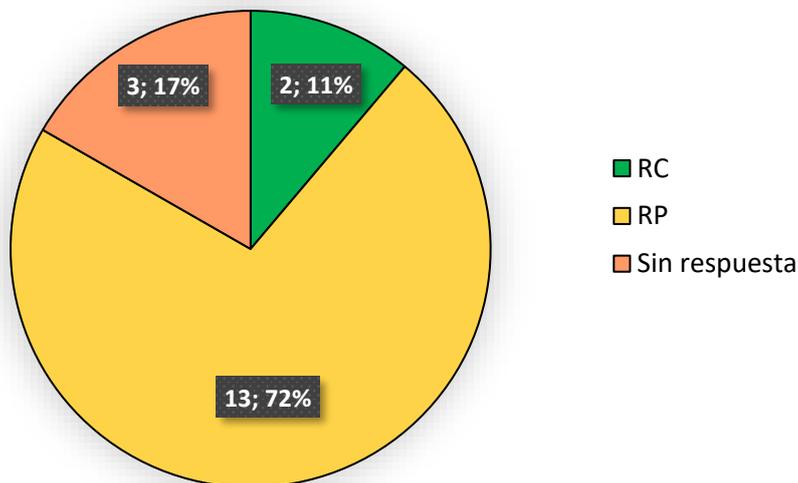
Quince (75%) de los pacientes recibieron todas las dosis del mismo donante.

En cuanto a la infusión de las MSC, en ningún caso se detectó complicaciones, ni efectos secundarios derivados de su administración.

4.3.5 RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

La respuesta se analizó durante los 90 días siguientes a recibir la primera infusión de MSC, siendo baja del análisis dos pacientes por éxitus previo a la fecha marcada. En el análisis global de la afectación se observó algún grado de respuesta en 15 (75,0%) pacientes, siendo en su práctica totalidad RP, ya que en la mayoría de los pacientes se produjo una mejoría franca de la sintomatología sin una resolución completa de la misma, principalmente por la persistencia de sintomatología a nivel de la mucosa oral y ocular

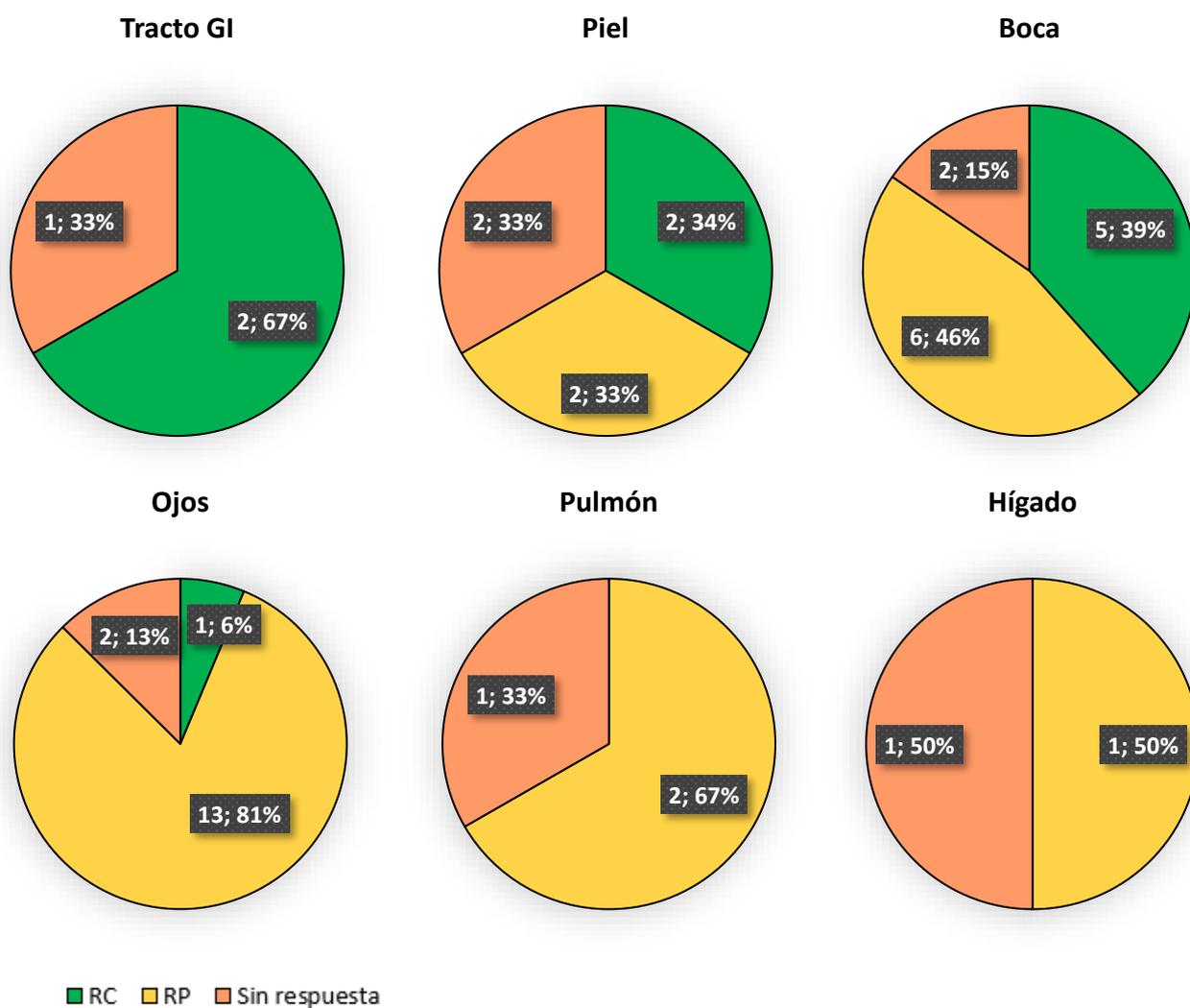
Gráfica 17.



Gráfica 17. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR crónica a los 90 días.

- Tasa de respuestas por órgano afecto:

La tasa de RG son similares en todos los órganos (70 - 80%), pero difieren en la RC, siendo muy superiores en el tracto gastrointestinal (67,0%) con respecto a la afectación cutánea (33%) y de la mucosa oral (39%), siendo prácticamente ausentes en el resto de afectaciones. Cabe destacar que las respuestas alcanzadas a nivel ocular en muchos de los casos se aproximaban a la RC ^{Gráfica 18}.



Gráfica 18. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR crónica en función del órgano.

- Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta:

Se analizaron distintos parámetros del paciente y del trasplante, y su relación con el alcanzar o no respuesta a la administración con MSC al episodio de EICR crónica ^{Tabla 27}.

Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta

	Respuesta (n=17)	No respuesta (n=3)	P valor
Edad			
<40 años	2	0	0,06
40 - 60 años	9	2	
> 60 años	6	1	
Género			
Hombre	11	2	0,99
Mujer	6	1	
Estado enfermedad al trasplante			
RC	7	2	0,14
RP	1	1	
Enfermedad activa	9	0	
Tipo de donante			
DE	10	0	0,06
DnE	7	3	
Compatibilidad HLA			
Idéntico	15	3	0,99
MissMatch	2	0	
Acondicionamiento			
AMA	9	0	0,23
AIR	8	3	
Grado global EICR crónica			
Moderado	8	1	0,99
Severo	9	2	

Tabla 27. Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta a las MSC en la EICR crónica.

- Manejo de los tratamientos concomitantes:

La totalidad de los pacientes en el momento de la administración de MSC estaban recibiendo otros tratamientos concomitantes.

El análisis del manejo y la dosificación de los tratamientos sistémicos a los 90 días de la administración de las MSC mostró que de los 15 pacientes que recibían inmunosupresores sistémicos, 5 de ellos habían podido reducir la dosis más de un 50% y uno logró una suspensión completa, mientras en el resto no se logró un descenso significativo de la dosis. En cambio, de los 18 pacientes que recibían corticoesteroides sistémicos, se observó un descenso superior al 50% de la dosis en 5 de ellos, además de 9 que lograron cesar su administración de forma completa a los 90 días de recibir las MSC.

- Nuevas líneas terapéuticas para la EICR crónica tras las MSC:

Un total de 10 (55,6%) pacientes precisaron nuevas líneas de tratamiento para la EICR crónica. Como únicamente 2 pacientes alcanzaron RC de la sintomatología tras la administración de las MSC, no podemos considerar como recaída de la EICR crónica la necesidad de nuevas líneas terapéuticas.

En 4 (22,2%) pacientes se administró una nueva tanda de MSC tras una mediana de 208 días (91 - 612) desde la primera infusión de estas. En tres se trataba de un empeoramiento de la afectación mucosa ocular y bucal, en la que previamente habían respondido favorablemente a las MSC. Tras esta segunda administración alcanzaron 1 RC y 2 RP. La restante se trataba de una afectación extensa (mucosa, cutánea, digestiva y hepática) que no presentó respuesta a ninguna de las administraciones de MSC.

El resto de las líneas terapéuticas utilizadas fueron: 4 FAE, 2 imatinib, 1 PUVA y otro desarrollo BO precisando tratamiento dirigido. Además de la necesidad de pautas sistémicas de corticoesteroides e inmunosupresores.

- Último seguimiento:

Tras 923 días (264 - 1688) 7 (38,9%) pacientes habían fallecido, presentando EICR crónica activa 4 de ellos.

De los 18 pacientes analizables, 10 precisaron nuevas líneas terapéuticas, 6 continuaron con tratamiento sistémico con corticoesteroides e inmunosupresores sin precisar nuevas líneas, y únicamente 2 pacientes lograron suspender de forma completa los tratamiento sistémicos sin la necesidad de nuevos tratamientos, ambos vivos al último seguimiento.

- Análisis de la supervivencia:

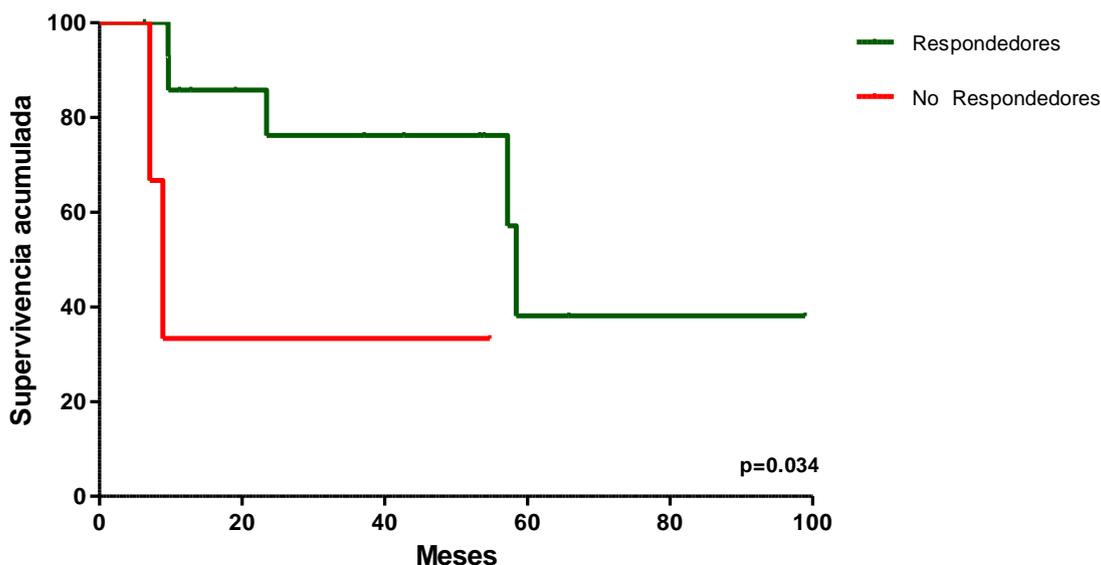
Al evaluar la SG de los pacientes según la respuesta alcanzada a los 90 días de recibir las MSC se observó que los pacientes que presentan algún grado de respuesta presentaban una ventaja en la SG frente a los pacientes no respondedores a MSC ^{Tabla 28, Gráfica 19}.

SG en función de la respuesta alcanzada (respuesta vs no respuesta) +90 días

Grupo	N	N eventos	Mediana (IC 95%)	Sv 12 meses	Sv 24 meses	Sv 36 meses	P valor
Respondedores	15	5	58,43 (55,93 - 60,92)	0,86	0,76	0,76	0,034
No respondedores	3	2	8,88 (5,95 - 11,82)	0,33	0,33	0,33	

Tabla 28. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC a los 90 días en la EICR crónica.

Los pacientes que no alcanzaron respuesta a las MSC en la EICR crónica asociaron de manera significativa una menor SG con una HR 5,80 (IC 95%, 0,94 - 35,95; p=0,034).



Gráfica 19. Supervivencia global en función de la respuesta alcanzada a las MSC a los 90 días en la EICR crónica.

4.3.6 EVOLUCIÓN DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

- Complicaciones infecciosas:

Las documentaciones microbiológicas en los 6 meses posteriores a la infusión de las MSC se observaron en 8 (44,4%) pacientes, y todos ellos estaban con tratamiento con inmunosupresores y EICR activa.

Los crecimientos bacterianos más frecuentes fueron las enterobacterias (*Klebsiella*, *Enterobacter* y *Escherichia*), siendo el foco predominante el urinario. No se documentó ninguna infección fúngica sistémica. Únicamente en un paciente se produjo replicación de CMV tras 5 meses de la infusión, cuando previo al tratamiento con MSC también se había documentado y tratado su replicación.

- Estado de la enfermedad hematológica:

En dos pacientes se produjo recaída de la enfermedad hematológica después de 242 y 884 días de la infusión de MSC, tratándose de dos pacientes con LMA de alto riesgo por marcadores citogenéticos y moleculares de mal pronóstico.

- Cifras hemoperiféricas a los 90 días:

Las cifras hemoperiféricas a los 90 días tras recibir la infusión de las MSC fueron las siguientes: plaquetas $211 \times 10^9/L$ (149 - 267), neutrófilos 3.785/uL (2.755 - 5.155) y hemoglobina 14,3 gr/dL (11,5 - 15,0).

- Ingresos hospitalarios:

Durante el primer año tras la infusión de las MSC cinco pacientes precisaron ingreso hospitalario, siendo el motivo más frecuente de ingreso las infecciones.

- Éxitus:

Al último seguimiento, del total de pacientes que recibieron MSC para la EICR crónica, 9 (45,0%) pacientes habían fallecido tras 293 días (147 - 1230) desde la infusión de las MSC, 2 de ellos previamente a los 90 días (momento en el que se realizó el análisis).

El motivo del éxitus de los pacientes fueron los procesos infección secundarios al tratamiento de la EICR crónica activa (6) y el resto por progresión de la enfermedad hematológica.

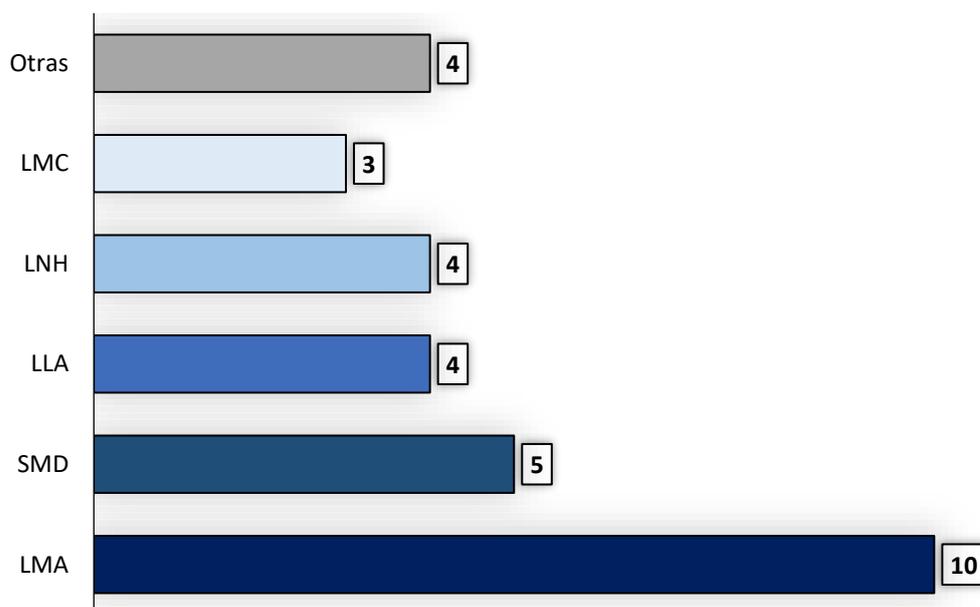
4.4 CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE

Entre octubre de 2009 y octubre de 2018 se han analizado los tratamientos con MSC para esta complicación, siendo un total de 30 pacientes (18 en uso compasivo y 12 dentro del ensayo clínico CIT-HUS; EudraCT: 2013-000534-35; NTC02104440).

4.4.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Se trataron un total de 21 varones (70,0%) y 9 mujeres (30,0%), la mediana de edad fue de 49 años (39 - 58).

En cuanto a la hemopatía de base, predominan las enfermedades mieloides, siendo un tercio de los pacientes leucemias mieloblásticas agudas ^{Gráfica 20}.



Gráfica 20. Distribución de la enfermedad hematológica en los pacientes tratados con MSC en las citopenias periféricas.

Otras: Leucemia linfática crónica (1); Leucemia mielomonocítica crónica (1); Linfoma Hodgkin (1); Aplasia medular (1).

4.4.2 CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE

En la siguiente tabla se reflejan las características del Alo-TPH ^{Tabla 29} en los pacientes tratados.

Características del Alo-TPH	N (%)
Estado enfermedad al trasplante	
RC	21 (70,0)
RP	4 (13,3)
Enfermedad activa	5 (16,7)
Tipo de donante	
DnE	18 (60,0)
DE	12 (40,0)
Compatibilidad HLA	
Idéntico	20 (66,7)
Haploidéntico	4 (13,3)
1 Miss-match	3 (10,0)
2 Miss-match	4 (13,3)
Régimen de acondicionamiento	
AMA	14 (46,7)
AIR	16 (53,3)
Fuente de infusión	
SP	23 (76,7)
MO	3 (10,0)
SCU	4 (13,3)
Profilaxis de EICR	
Tacrolimus - MTX	9 (30,0)
Tacrolimus - Rapamicina	10 (33,3)
CsA - MTX	4 (13,3)
Otros	7 (23,3)

Tabla 29. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en las citopenias periféricas postrasplante.

4.4.3 EPISODIO DE CITOPENIA PERIFÉRICA POSTRASPLANTE

ESTADO DEL PACIENTE PREVIO TRATAMIENTO CON MSC

- Estado de la enfermedad hematológica:

Todos los pacientes tratados habían injertado inicialmente tras el Alo-TPH y se encontraban en situación de RC morfológica con quimerismo de MO completo en los 28 días previos a recibir las MSC.

- Enfermedad injerto contra receptor:

Siendo una de las causas secundarias frecuentes de citopenia postrasplante se analizaron los episodios de EICR: 21 (67,7%) de los pacientes habían desarrollado EICR previamente a la administración de MSC en los 113 días (27 - 195) previos, pudiendo ser el motivo desencadenante de la citopenia en 16 de ellos, por la proximidad entre los eventos, ya que los episodios de EICR se desarrollaron menos de 3 meses con respecto a la infusión de las MSC. Los episodios de EICR fueron 17 de EICR aguda y 4 de EICR crónica, todos en grados leves.

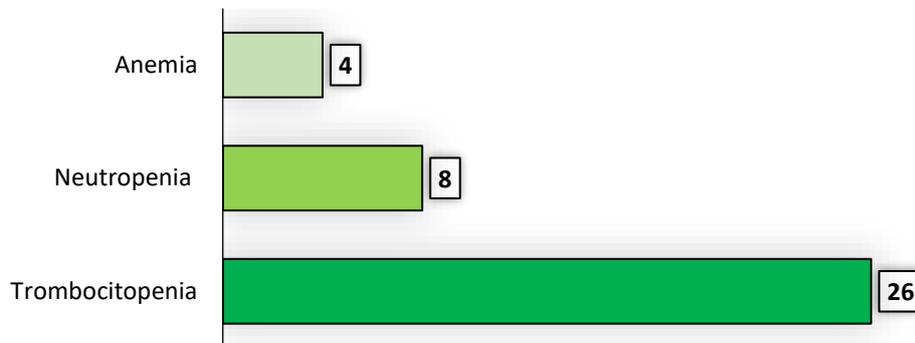
- Reactivación de CMV:

Todos los pacientes a excepción de uno tenían la carga viral del CMV negativa mediante determinación de PCR cuantitativa previamente a la administración de las MSC, y no habían recibido tratamiento antiviral en las semanas previas al desarrollo de la/s citopenia/s y al tratamiento celular.

CARACTERÍSTICAS DE LA CITOPENIA PERIFÉRICA POSTRASPLANTE

La mayor parte los casos (20 pacientes; 80,6%) tenían una única citopenia: 20 trombocitopenia, 3 neutropenia y 2 anemia. Cinco pacientes tenían bicitopenias, y solamente un paciente presentaba afectación de las tres líneas.

Globalmente, 26 pacientes (83,9%) tenían trombocitopenia, seguido de la neutropenia en 8 (25,8%) y la anemia en 4 (12,9%) Gráfica 21.



Gráfica 21. Características de la citopenia periférica postrasplante en los pacientes tratados con MSC.

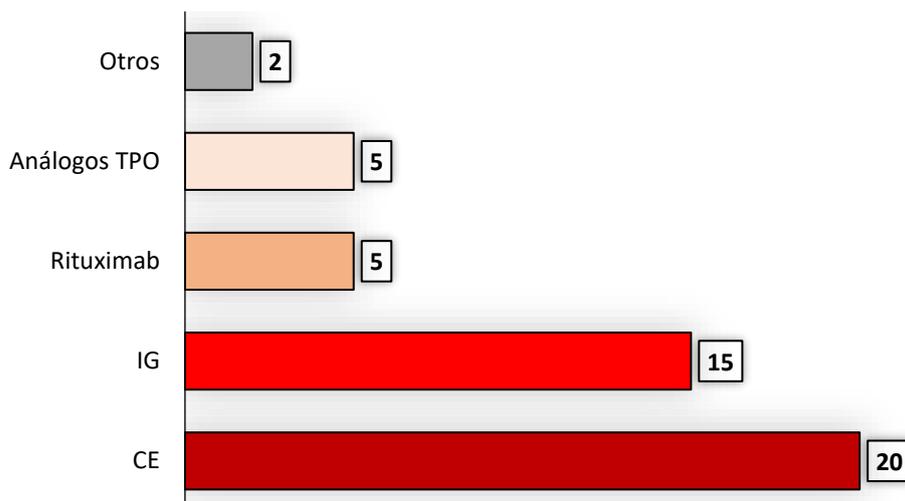
La mediana de las cifras hemoperiféricas previamente a recibir la infusión de las MSC fueron las siguientes: plaquetas $17 \times 10^9/L$ (10 - 24), neutrófilos 475/uL (162 - 592) y hemoglobina 7,0 gr/dL (6,2 - 7,1).

- Líneas terapéuticas previas a las MSC:

Previamente a las MSC los pacientes recibieron una mediana de 2 (0 - 5) líneas de tratamiento dirigida para las citopenias. Siendo el más utilizado el corticoesteroide en 21 pacientes (67,7%), seguido de los reflejados en el gráfico que se indica a continuación

Gráfica 22.

De la misma forma, varios pacientes recibieron tratamientos concomitantes con estimulantes de los progenitores: EPO 11 pacientes, G-CSF en 14, así como 5 análogos de TPO.



Gráfica 22. Líneas terapéuticas previas a las MSC en las citopenias periféricas postrasplante.

Otros: Azatioprina (1), Bortezomib (1).

Además, 2 pacientes recibieron MSC para un episodio de EICR aguda digestiva grado IV los 3 meses (47 y 82 días) previos a la infusión de MSC para las citopenias. Ambos pacientes alcanzaron una respuesta inicial de la EICR aguda (RC y RP), tras la cual presentaron una reaparición de la clínica de EICR, esta vez junto a la presencia de citopenias periféricas, motivo este último por el que fueron tratados con MSC.

4.4.4 ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Las MSC se administraron tras una mediana de 120 días (61 - 293) desde la realización del Alo-TPH. Recibiéndolas 25 (80,6%) de los pacientes antes de cumplir el primer año del trasplante.

Se infundió una dosis de MSC de $0,94 \times 10^6$ / kg (0,87 - 1,03) de peso del receptor en cada administración, siendo la pauta más utilizada la secuencial (días 1, 4, 11 y 18), que se empleó en 25 pacientes (80,6%), y solamente un paciente recibió una pauta de administración semanal. Todo estos pacientes recibieron 4 dosis de MSC. Los 5 pacientes restantes (16,1%) no siguieron una pauta de administración establecida, ya que por

diversos motivos ninguno completó 4 dosis (un paciente 3 dosis, dos de ellos 2 dosis y otros dos 1 dosis).

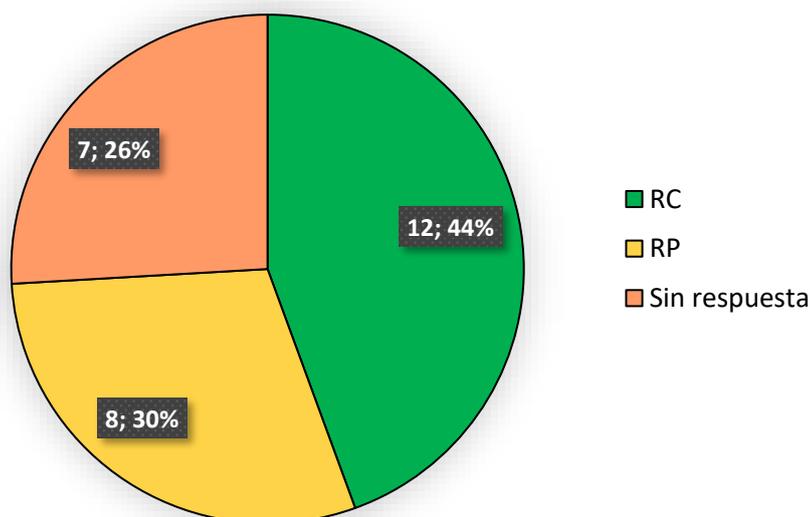
Al revisar la trazabilidad de la UPC, en 22 de los casos (71.0%) el paciente recibió todas las dosis del mismo donante.

Tras revisar las hojas de infusión, no se detectó ninguna complicación, ni efecto secundario relacionado con la administración de las MSC.

4.4.5 RESULTADOS CON LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

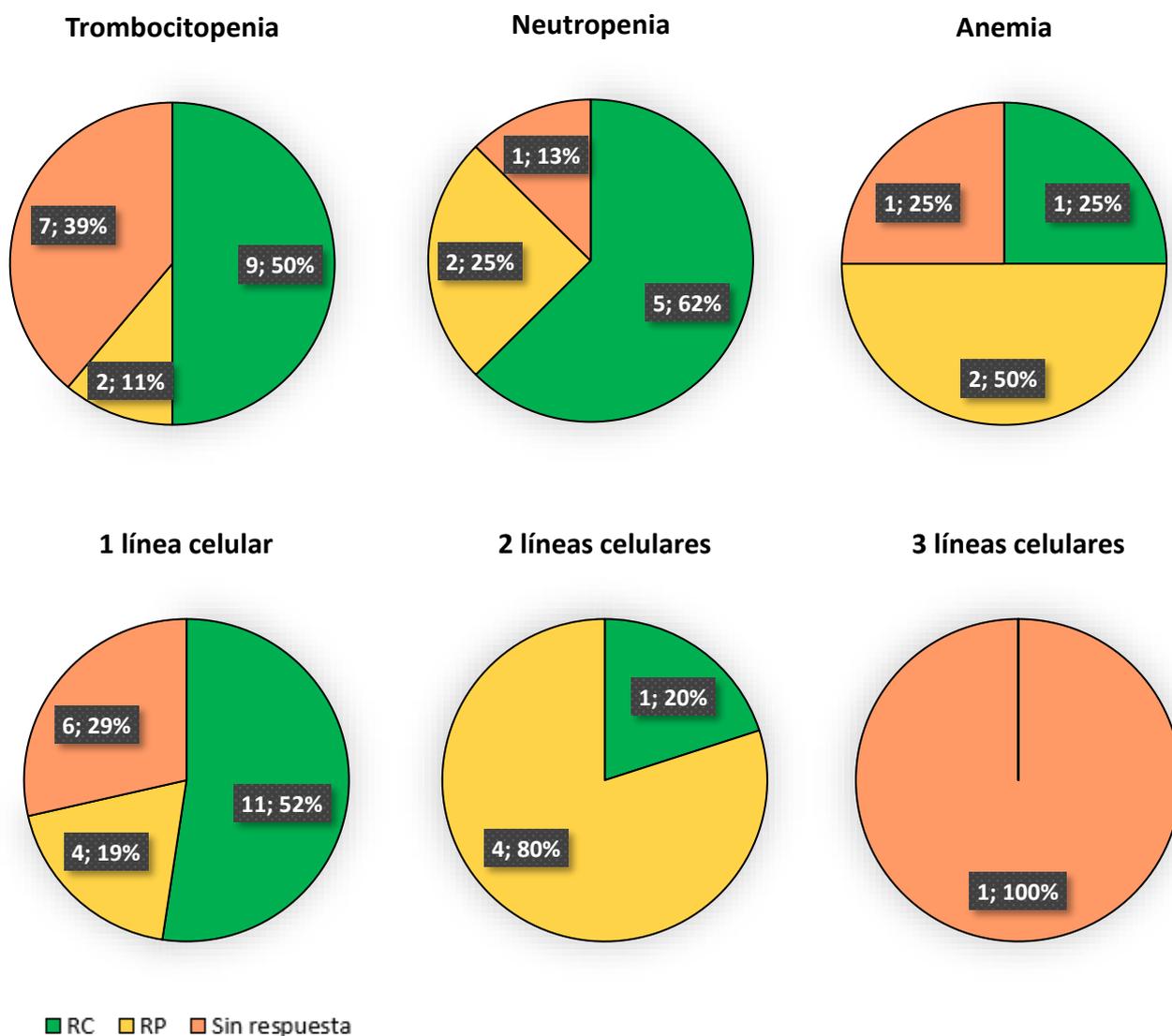
Las respuestas se analizaron en el día 90 tras la primera infusión. Durante el seguimiento hasta dicho día se observó una tasa de respuestas de 24/30 (80,0%), siendo 14 RC y 10 RP. Al día 90 se pudieron evaluar 27 pacientes, 12 mantenían la RC y 8 la RP (RG de 75,0%), además otros 7 que no presentaban respuesta ^{Gráfica 23}.

Un paciente recuperó cifras hemoperiféricas forma tardía (día +283) sin recibir ningún otro tratamiento posterior para la citopenia.



Gráfica 23. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en las citopenias periféricas postrasplante en el día +90.

Al analizar las respuestas en función del tipo de citopenia, se observa que las respuestas alcanzadas son superiores en las trombocitopenias y las neutropenias. Además, las citopenias únicas presentan mejores tasas de respuesta. En las bicitopenias se observó generalmente la mejoría o respuesta de una de las líneas afectadas y ausencia de respuesta de la otra, en los 4 casos donde se cataloga la bicitopenia con RP, la línea celular que no respondió o solamente alcanzó la RP fue la trombocitopenia, y en un caso la anemia Gráfica 24.



Gráfica 24. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en las citopenias periféricas postrasplante en el día +90 en función de la línea celular afectada y el número de líneas.

Las citopenias son una complicación severa, por lo que en muchas ocasiones se asocian varias líneas terapéuticas de forma concomitante, de esta forma a veces es complicado valorar la respuesta a las líneas de tratamiento. Al revisar los pacientes que alcanzaron alguna respuesta con MSC se comprobó que 12 (44,4%) de ellos no tenían asociado otro tratamiento frente a 8 (29,6%) que, si lo tenían, siendo en la mitad de los casos un análogo TPO.

El tiempo para alcanzar una respuesta varía según la línea celular afectada. En la neutropenias la RP se alcanza tras 13 ± 5 días, y la RC después de 38 ± 29 días. En el caso de las trombocitopenias los tiempos son mayores, alcanzándose la RP en el día 18 ± 15 , y la RC con 44 ± 23 días en los pacientes que responden.

La evolución de las cifras hemoperiféricas tras recibir la infusión de las MSC fueron las siguientes ^{Tabla 30}:

Evolución cifras hemoperiféricas tras la administración de las MSC

Día evaluación	Hemoglobina	Neutrófilos	Plaquetas
0	7,0 gr/dL (6,2 - 7,1)	475/uL (162 - 592)	$17 \times 10^9/L$ (10 - 24)
+30	10,3 gr/dL (9,0 - 11,6)	1.725/uL (1.137 - 3.065)	$56 \times 10^9/L$ (36 - 94)
+60	10,8 gr/dL (8,9 - 11,9)	1.770/uL (890 - 3.170)	$41 \times 10^9/L$ (21 - 126)
+90	11,3 gr/dL (9,8 - 13,4)	2.333/uL (1.250 - 3.680)	$74 \times 10^9/L$ (20 - 145)
Último seguimiento	13,2 gr/dL (11,0 - 14,5)	2.670/uL (1.395 - 5.345)	$118 \times 10^9/L$ (61 - 207)

Tabla 30. Evolución de las cifras hemoperiféricas tras la administración de las MSC.

- Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta:

Se analizaron distintos parámetros del paciente y del trasplante, y su relación con el alcanzar RC a la administración con MSC en las citopenias periféricas en el día 90 ^{Tabla 31}.

Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta

	RC (n=12)	No RC (n=15)	P valor
Edad			
<40 años	4	3	0,21
40 - 60 años	4	10	
> 60 años	4	2	
Género			
Hombre	9	11	0,99
Mujer	3	4	
Estado enfermedad al trasplante			
RC	6	8	0,37
RP	3	1	
Enfermedad activa	3	6	
Tipo de donante			
DE	6	5	0,38
DnE	6	10	
Compatibilidad HLA			
Idéntico	10	7	0,10
MissMatch	2	5	
Haploidéntico	0	3	
Acondicionamiento			
AMA	3	9	0,12
AIR	9	6	
Número citopenias			
Monocitopenia	11	10	0,28
Bicitopenia	1	4	
Pancitopenia	0	1	

Tabla 31. Influencia de las características de los pacientes y del trasplante en la respuesta a las MSC en las citopenias.

- Último seguimiento:

Al último seguimiento, tras 936 días (448 - 1754) 12 pacientes (44,4%) habían fallecido. Doce de los 13 pacientes que habían alcanzado RC en el día 90 la mantenían, y el paciente restante había fallecido por un episodio de EICR aguda. De los pacientes que habían alcanzado RP, 4 lograron RC con la asociación de una nueva línea de tratamiento y 4 los no-respondedores, cuatro de los 7 habían fallecido en el último seguimiento, 2 lograron una respuesta con una nueva línea de tratamiento y uno de ellos permanece sin alcanzar respuesta ^{Tabla 32.}

Último seguimiento en función de la respuesta día +90

Respuesta día 90	Último seguimiento	Porcentaje (%)
RC n=12	11 RC	92
	1 éxitus	8
RP n=8	3 RC y 1 RP	50
	4 éxitus	50
Sin respuesta n=7	1 RC, 1 RP y 1 Sin respuesta	43
	4 éxitus	57

Tabla 32. Estado del paciente en el último seguimiento en función de la respuesta a las MSC en las citopenias periféricas postrasplante en el día +90.

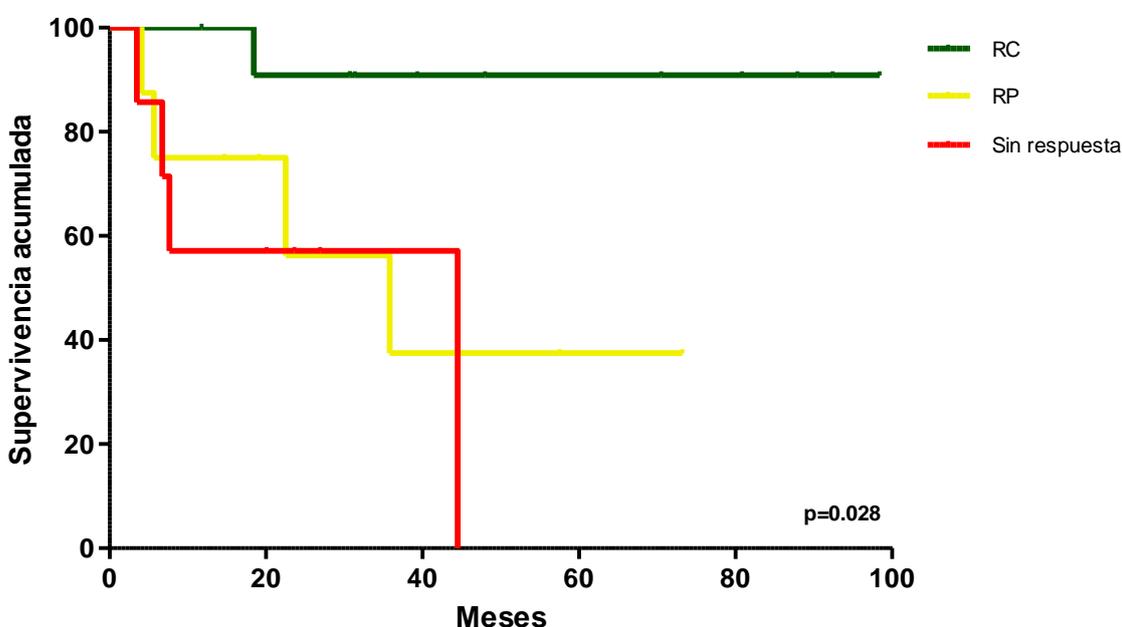
- Análisis de la supervivencia:

Al analizar la SG de los pacientes que alcanzan algún grado de respuesta con las MSC en el día 90 del análisis se observó que los pacientes que presentaban algún grado de respuesta tienen una ventaja en la SG, frente a los no respondedores, sin llegar a alcanzar la mediana de supervivencia en los respondedores ^{Tabla 33, Gráfica 25.}

SG en función de la respuesta alcanzada (respuesta vs no respuesta) +90 días

Grupo	N	N eventos	Mediana (IC 95%)	Sv 12 meses	Sv 24 meses	Sv 36 meses	P valor
RC	12	1	No alcanzan mediana	1,00	0,91	0,91	0,028
RP	8	4	35,80 (7,62 - 63,98)	0,75	0,43	0,43	
Sin respuesta	7	4	44,46 (-)	0,57	0,57	0,57	

Tabla 33. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (respuesta vs no respuesta) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.



Gráfica 25. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (respuesta vs no respuesta) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.

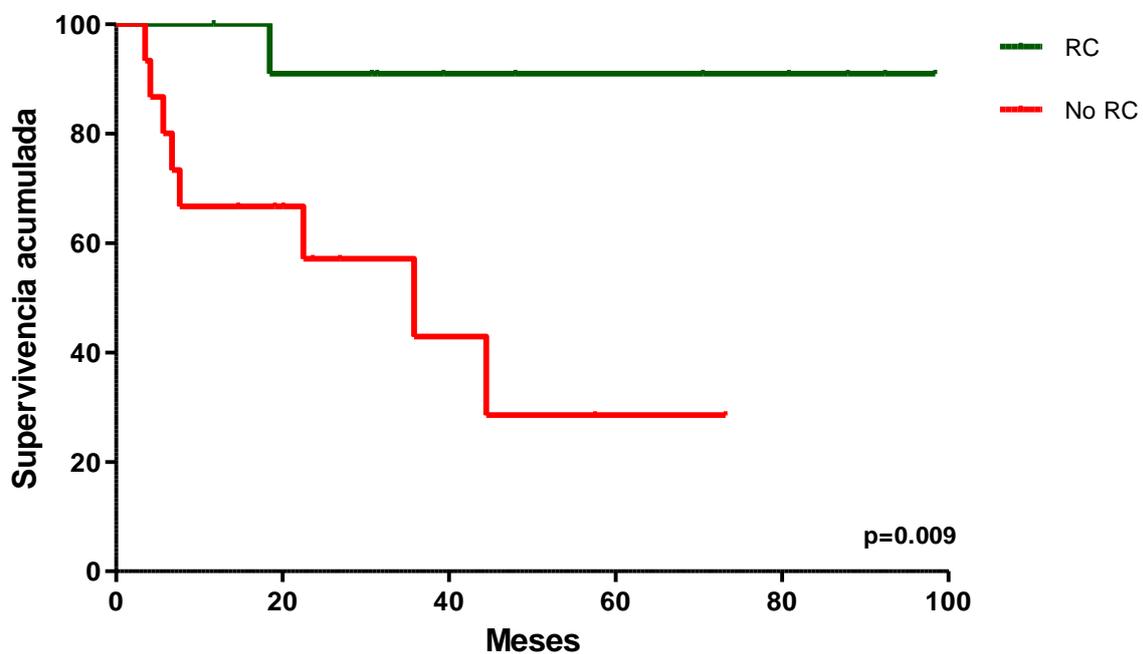
Los pacientes que lograron alcanzar una RP presentaron de manera significativa una menor SG con una HR 8,42 (IC 95%, 0,94 - 75,75; p=0,028) frente a los que presentaron RC, así como los que no lograron respuesta con una HR 11,63 (IC 95%, 1,28 - 106,78; p=0,028).

Dichas diferencias se vieron incrementadas cuando se analizaron a los pacientes que alcanzaron RC frente a los que no la lograron Tabla 34, Gráfica 26.

SG en función de la respuesta alcanzada (RC vs no RC) +90 días

Grupo	N	N eventos	Mediana (IC 95%)	Sv 12 meses	Sv 24 meses	Sv 36 meses	P valor
RC	12	1	No alcanzan mediana	1,00	0,91	0,91	0,009
No RC	15	8	35,80 (6,47 - 65,14)	0,67	0,57	0,43	

Tabla 34. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (RC vs no RC) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.



Gráfica 26. Supervivencia global en función de la respuesta a las MSC (RC vs no RC) a los 90 días en las citopenias periféricas postrasplante.

Los pacientes que no alcanzaron RC asociaron de manera significativa una menor SG con una HR 9,73 (95% CI, 1,21 - 78,61; p=0,009) en la administración de MSC en citopenias periféricas.

4.4.6 EVOLUCIÓN DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

- Complicaciones infecciosas:

En 19 (70,4%) de los pacientes se documentó al menos una positividad microbiológica en los 6 meses posteriores a la infusión de las MSC. Todos estos pacientes estaban con tratamiento inmunosupresor.

Los crecimientos microbiológicos más frecuentes fueron las *Staphylococcus coagulasa negativo* en hemocultivos y enterobacterias, principalmente *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Escherichia*, siendo las determinaciones en hemocultivos y orina. Se documentaron 2 infecciones fúngicas sistémicas, un *Aspergillus* y un *Fusarium*. En cuanto a la replicación del CMV tras la infusión de las MSC se produjo en 2 (7,4%) pacientes, en ambos casos tras 45 días sin haber presentado replicación previamente.

- Estado de la enfermedad hematológica:

En dos pacientes se observó reaparición de la enfermedad hematológica, uno de ellos tras 2 meses del trasplante, sin haber relación con la infusión de las MSC, ya que se trataba de una LMA con enfermedad mínima residual positiva previa al Alo-TPH, además de presentar alto riesgo citogenético. En el otro paciente la recaída se produjo tras 6 años del trasplante. Al último seguimiento, el resto de los pacientes permanecían en RC y quimerismo de MO completo.

- Episodios de enfermedad injerto contra receptor:

Seis (22,2%) pacientes desarrollaron un episodio de EICR 57 días (10 - 456) después de la administración de las MSC, sin haberlo presentado de forma previa a su infusión.

En los dos primeros pacientes descritos en la siguiente tabla, se trató de forma conjunta la citopenia y la EICR aguda con MSC. Uno de ellos presentó progresión a nivel cutáneo, alcanzando RC con FAE; y RP de las citopenias periférica. El otro paciente logró RC tanto de la afectación por EICR, como de las citopenias ^{Tabla 35}.

Desarrollo de EICR tras administración de MSC

Tipo	Órgano	Día tras las MSC
Agudo	Digestivo I y cutáneo III	10
Agudo	Cutáneo II	18
Agudo	Digestivo II	45
Agudo	Digestivo I	69
Agudo	Cutáneo III	73
Crónico	Ocular moderado	456

Tabla 35. Episodio de EICR tras la administración de MSC en las citopenias periféricas postrasplante.

Además, 10 pacientes que ya habían presentado un brote de EICR aguda previo al tratamiento con MSC, desarrollaron un nuevo episodio tras la administración de estas (EICR aguda 8 y EICR crónica 2). Todos los episodios surgieron con más de 2 meses de distanciamiento con respecto a la administración de las MSC.

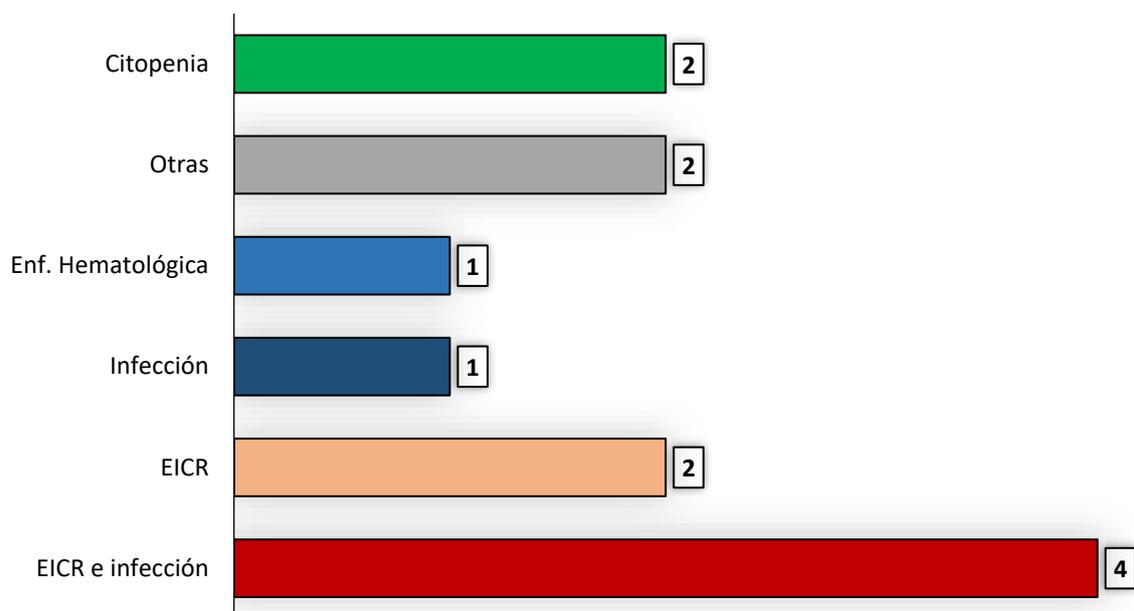
- Ingresos hospitalarios:

Doce (44,4%) de los pacientes precisaron ingreso hospitalario durante el primer año tras la infusión de las MSC, siendo los motivos más frecuentes de ingreso las infecciones y episodios de EICR. Únicamente en 3 pacientes se produjo un ingreso secundario a la citopenia por diátesis hemorrágica, siendo la causa de éxitus en dos de ellos.

- Éxitus:

Doce (40,0%) de los pacientes habían fallecido al último seguimiento, tras 189 días (88 - 655) desde la infusión de las MSC, 3 de ellos antes de los 90 días (momento en el que se realizó el análisis).

El motivo de éxitus predominante fue el binomio EICR y proceso infeccioso, siendo únicamente secundario a la citopenia en 2 (6,7%) pacientes, debido a diátesis hemorrágicas ^{Gráfica 27}.



Gráfica 27. Motivo de éxitus de los pacientes tratados con MSC en las citopenias periféricas postrasplante.

Otras: Neoplasia pulmonar (2).

4.5 CISTITIS HEMORRÁGICA

Entre abril de 2012 y junio de 2018 se analizaron las infusiones de MSC de 5 pacientes adultos con cistitis hemorrágica después del Alo-TPH.

4.5.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Recibieron la infusión con MSC 4 varones (80,0%) y 1 mujer (20,0%), con una mediana de edad de 30 años (26 - 53). La enfermedad hematológica por la que se realizaron el Alo-TPH fue en 3 (60%) de ellos la LLA, y en el resto un LNH y un SMD.

4.5.2 CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE

Las características del trasplante se ven reflejadas en la siguiente tabla ^{Tabla 36.}

Características del Alo-TPH	N (%)
Estado enfermedad al trasplante	
RC	4 (80,0)
Enfermedad activa	1 (20,0)
Tipo de donante	
DE	3(60,0)
DnE	2 (40,0)
Compatibilidad HLA	
Idéntico	2 (40,0)
Haploidéntico	2 (40,0)
2 Miss-match	1 (20,0)
Régimen de acondicionamiento	
AMA	4 (80,0)
AIR	1 (20,0)
Cy y/o ICT y/o Busulfán	4 (80,0)
Fuente de infusión	
SP	4 (80,0)
SCU	1 (20,0)
Profilaxis EICR	
Cy post-Alo-TPH	2 (40,0)

Tabla 36. Característica del Alo-TPH en los pacientes tratados con MSC en la cistitis hemorrágica.

4.5.3 EPISODIO DE CISTITIS HEMORRÁGICA

ESTADO DEL PACIENTE PREVIO TRATAMIENTO CON MSC

- Estado de la enfermedad hematológica:

La totalidad de los pacientes se encontraban en situación de RC de la enfermedad, siendo la primera reevaluación de esta después del trasplante.

- Enfermedad injerto contra receptor:

Siendo uno de los predisponentes del desarrollo de la cistitis hemorrágica se analizaron los episodios de EICR aguda. Se presentó en 3 (60,0%) pacientes de forma concomitante al episodio de la cistitis.

Una afectación por EICR aguda cutánea I y digestiva II que alcanzó RC con corticoides. Otro paciente presentó afectación cutánea grado IV sin respuesta a corticoides, ni a MSC administradas de forma simultánea para la EICR aguda y la cistitis hemorrágica; finalmente logró RC con FAE. Y el paciente restante presentó varios episodios de EICR aguda digestiva de grados III - IV que alcanzó RP a dos tandas de MSC, no siendo estas administradas de forma simultánea a la dosis de MSC dirigidas contra la cistitis hemorrágica.

- Determinaciones víricas:

En 4 (80,0%) pacientes se determinó mediante PCR la replicación de *Poliomavirus* BK (3) y JC (1) en el episodio de cistitis hemorrágica.

Además, uno de los pacientes presentaba replicación de CMV de forma concomitante a la infusión de las MSC.

- Cifra de plaquetas:

Todos los pacientes presentaban trombocitopenia en soporte transfusional con una mediana de cifra de plaquetas de $34 \times 10^9/L$ (5 - 64) en el momento de la administración de las MSC.

CARACTERÍSTICAS DE LA CISTITIS HEMORRÁGICA

Se trataron 5 pacientes con afectación grave todos ellos, cistitis hemorrágica grado III.

Previamente a recibir las MSC los pacientes recibieron una mediana de 3 (2 - 3) líneas de tratamiento dirigida para la cistitis. Siendo los tratamientos empleados lavados vesicales con suero (5), instilaciones de ácido hialurónico intravesical (5) y administración de cidofovir intravesical (4).

4.5.4 ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Las MSC se administraron tras una mediana de 14 días (7 - 25) desde el inicio de la clínica de la cistitis hemorrágica, y después de 88 días (44 - 233) tras el Alo-TPH.

Se infundió una dosis de MSC de $1,30 \times 10^6/ kg$ (0,95 - 1,85) de peso del receptor en cada administración. Recibieron 2 (2 - 3) dosis por cada paciente. Tres de ellos recibieron 2 dosis separadas por una semana, otro recibió una dosis única de 160×10^6 MSC, y el restante recibió 4 dosis en una pauta secuencial (días 1, 4, 11 y 18) en el contexto de citopenias periféricas postrasplante.

Tras la revisión de la infusión, no se detectó ninguna complicación, ni efecto secundario relacionado con la administración de las MSC.

4.5.5 RESULTADOS CON LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Todos los pacientes presentaron una mejoría de la clínica de la cistitis hemorrágica tras la primera dosis, así como un descenso de los requerimientos transfusionales de hematíes y plaquetas. Únicamente un paciente logró la resolución completa de la clínica tras esta dosis inicial.

Otros 3 pacientes presentaron RC de la cistitis tras la segunda dosis, y el paciente restante (recibió una única dosis de MSC), alcanzó la práctica resolución de la sintomatología (RP), pero debido a múltiples complicaciones, principalmente la EICR e infecciosas, falleció.

Dos pacientes que recibieron las MSC con una doble indicación clínica. Un paciente recibió las MSC para tratar una EICR aguda y la cistitis hemorrágica, y desarrolló afectación cutánea por EICR grado IV refractaria sin presentar respuesta a la dosis de MSC, pero sí logró la RC de la cistitis hemorrágica. El segundo paciente las recibió para la cistitis hemorrágica y las citopenias periféricas (3 series) también presentó RC para la cistitis, pero no alcanzó respuesta a ninguna de las citopenias, siendo éxitus por diátesis hemorrágica pulmonar.

4.5.6 ESTADO DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Al último seguimiento, con una mediana de 235 días (15 - 815) tras la infusión de las MSC, 3 (60%) pacientes habían fallecido. El motivo del éxitus fue una insuficiencia respiratoria secundaria a un proceso infeccioso, un episodio de EICR aguda grado global IV refractaria a varias líneas terapéuticas y una hemorragia pulmonar secundaria a la pancitopenia.

En ninguno de los pacientes se determinó la recaída de la enfermedad hematológica, ni tampoco se documentaron procesos infecciosos, ni episodio de EICR de *novo* tras el tratamiento celular.

4.6 PACIENTES PEDIÁTRICOS

Entre febrero de 2010 hasta febrero de 2018 recibieron MSC 11 pacientes pediátricos por diferentes complicaciones del Alo-TPH (7 por EICR aguda, 2 citopenias periférica post-Alo-TPH y 2 cistitis hemorrágicas).

4.6.1 PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EICR AGUDA

CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE

Recibieron el tratamiento con MSC 5 varones (71,4%) y 2 mujeres (28,6%), con una mediana de edad de 7 años (3 - 11). Las enfermedades hematológicas por la que se realizó el Alo-TPH fueron 3 LMA, 2 LLA, 1 SMD y 1 beta-talasemia mayor.

CARACTERÍSTICAS DEL TRASPLANTE

Las características relacionadas con el trasplante se ven reflejadas en la siguiente tabla

Tabla 37.

EPISODIO DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR AGUDA

- Estado de la enfermedad hematológica:

En la reevaluación previa a recibir la infusión con MSC 5 (71,4%) pacientes de encontraban en RC, y en los otros 2 (28,6%) no era valorable por la proximidad con el Alo-TPH.

- Estado de los inmunosupresores:

Los niveles de inmunosupresores en la medición previa al episodio de EICR aguda se encontraban en concentraciones óptimas en 5 pacientes, en uno estaba en rango infraterapéutico, y en restante ya se había suspendido la inmunosupresión.

Características del Alo-TPH	N (%)
Estado de la enfermedad hematológica	
RC	5 (71,4)
Enfermedad activa	2 (28,6)
Tipo de donante	
DnE	5 (71,4)
DE	2 (28,6)
Compatibilidad HLA	
Idéntico	4 (57,1)
1 Miss-match	2 (28,6)
2 Miss-match	1 (14,3)
Régimen de acondicionamiento	
AMA	6 (85,7)
AIR	1 (14,3)
Fuente de infusión	
SP	4 (57,1)
MO	2 (28,6)
SCU	1 (14,3)
Profilaxis de EICR	
CsA - MMF	3 (42,8)
Tacrolimus - MTX	3 (42,8)
CsA - MTX	1 (14,3)

Tabla 37. Característica del Alo-TPH en los pacientes pediátricos tratados con MSC en la EICR aguda.

- Características del episodio de EICR aguda:

Tras una mediana de 70 días (8 - 88), los pacientes desarrollaron el episodio de EICR aguda por el cual recibieron los MSC. En la siguiente tabla vemos la afectación de cada uno.

Como se pudo comprobar en todos los pacientes se presentó afectación digestiva, en 4 pacientes de forma aislada y en el resto de forma conjunta con cutánea. Únicamente uno presentó afectación de los tres órganos ^{Tabla 38}.

En cuanto a la afectación global, 6 (85,7%) pacientes presentaron grados III - IV.

Previo a recibir las MSC, habían recibido una mediana de 3 líneas de tratamiento previas (1 - 3). En todos los casos siendo la primera línea los corticoesteroides a dosis de 2 mg/kg, seguidos de MMF en 6 casos, inhibidores de la calcineurina en 3 y en uno FAE.

Característica del episodio de EICR aguda

Órgano (s)	Grado global	Día tras el Alo-TPH
Digestivo I y Cutáneo III	II	8
Digestivo IV	IV	8
Digestivo II, Cutáneo II y Hepático III	III	18
Digestivo III	III	70
Digestivo III	III	81
Digestivo IV y Cutáneo IV	IV	88
Digestivo IV	IV	89

Tabla 38. Características del episodio de la EICR aguda de los pacientes pediátricos tratados con MSC.

ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Las MSC se administraron tras 78 días (21 - 106) desde el inicio del episodio de EICR aguda.

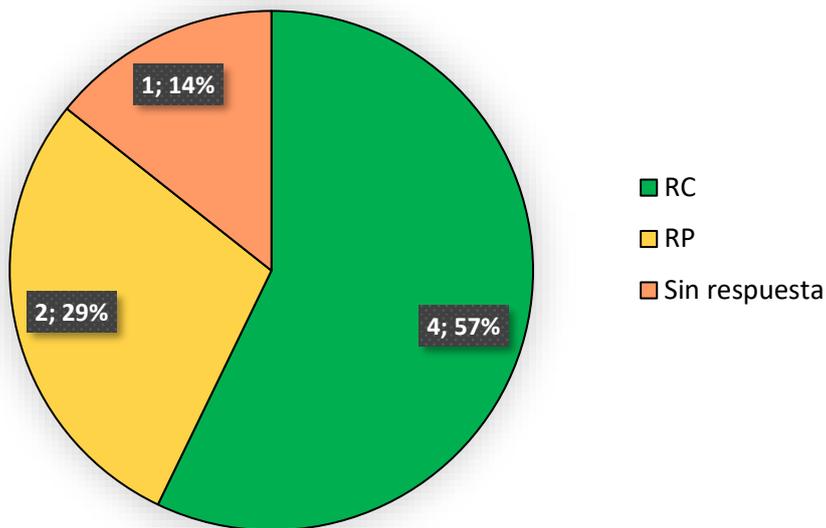
La dosis mediana por infusión fue de $1,97 \times 10^6$ / kg (1,66 - 3,47) de peso del receptor. Dicha cantidad por dosis duplica las dosis empleadas en los adultos. Se infundieron en 5 casos (71,4%) con una pauta secuencial, y en los dos casos restante sin una pauta de administración concreta. La mediana de número de dosis fue de 4 (3 - 4) por cada paciente. Solamente un paciente recibió una dosis superior a 4 dosis (9).

En cuanto a la trazabilidad del producto entre el donante y el receptor, 5 pacientes (71,4%) recibieron todos las dosis del mismo donante.

En ninguna de las infusiones realizadas se presentaron reacciones adversas.

RESULTADOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

Los resultados se evaluaron tras 28 días de la administración de las MSC, obteniendo una tasa de RG de 6/7 (85,7%), las cuales se ven reflejadas en el siguiente gráfico ^{Gráfica 28}.



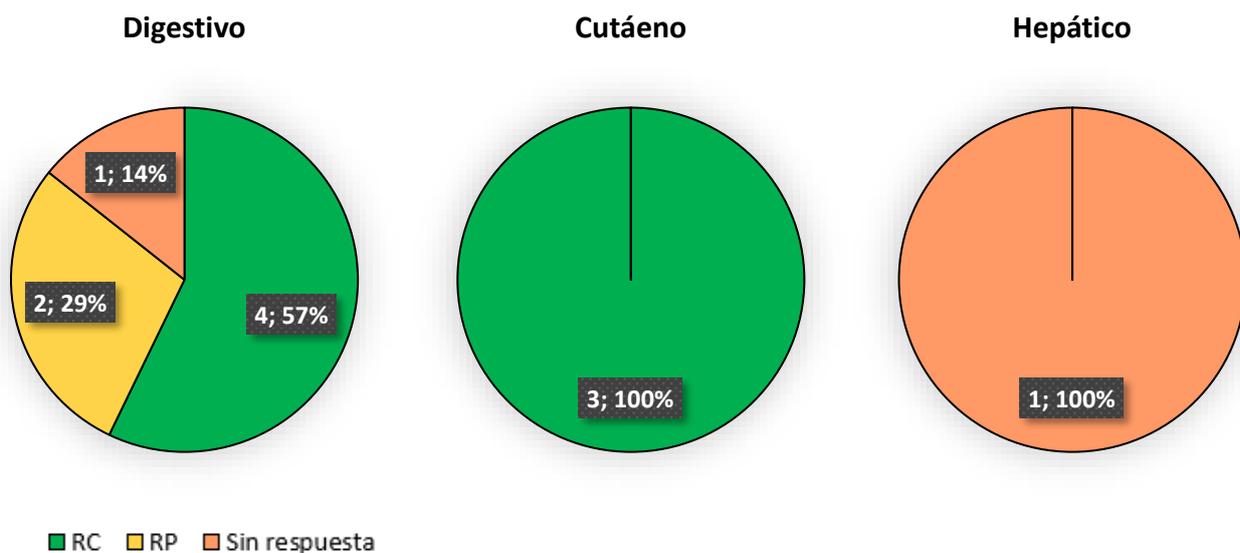
Gráfica 28. Tasa de respuesta al tratamiento con MSC en la EICR aguda en pacientes pediátricos.

Al analizar individualmente las respuestas en función del órgano afecto se obtuvieron los siguientes resultados ^{Gráfica 29}.

Ha de indicarse que los 3 pacientes que presentaban afectación múltiple presentaron todos RC en el día 28 tras la infusión de las MSC.

- Influencia de tratamientos concomitantes a las MSC:

Casi la mitad de los pacientes presentaron respuesta a MSC con la administración de otra línea terapéutica de forma concomitante, siendo la misma en los 3 casos, el MMF.



Gráfica 29. Tasa de respuesta con MSC en la EICR aguda en pacientes pediátricos en función del órgano afectado.

- Reaparición de un nuevo episodio de EICR aguda:

En tres pacientes reapareció clínica de EICR aguda con afectación digestiva tras haber presentado respuesta con anterioridad a las MSC ^{Tabla 39}.

Característica del nuevo episodio de EICR aguda

Órgano	Día tras las MSC	Respuesta
Digestivo IV	92	Sin respuesta a 3 líneas
Digestivo II	111	RC con corticoides
Digestivo III	320	RC con FAE

Tabla 39. Características de un nuevo episodio de la EICR aguda en los pacientes pediátricos tratados previamente con MSC.

- Último seguimiento:

Tras una mediana de seguimiento de 1293 días (118 - 2085) 5 (71,4%) pacientes siguen vivos y libres de EICR. En la siguiente tabla vemos reflejado el seguimiento de los pacientes ^{Tabla 40}.

Último seguimiento en función de la respuesta +28 días

Órgano (s)	Respuesta día +28	Respuesta últ. seguimiento
Digestivo I y Cutáneo III	RC	* RC
Digestivo IV	RC	RC
Digestivo II, Cutáneo II y Hepático III	RC	* RC
Digestivo III	Sin respuesta	RC con FAE
Digestivo III	RP	RP / Éxito
Digestivo IV y Cutáneo IV	RC	RC
Digestivo IV	RP	* Sin respuesta / Éxito

Tabla 40. Estado del paciente pediátrico en el último seguimiento en función de la respuesta a MSC en la EICR aguda en el día +28.

* Pacientes que precisaron una nueva línea de tratamiento tras reaparición de un nuevo brote de EICR aguda.

ESTADO DEL PACIENTE TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE LAS MSC

- Complicaciones infecciosas:

Se documentaron positivizaciones microbiológicas en 6 pacientes, sin poder relacionar en ninguno de los casos con la administración del producto celular, ya que había otras causas probables, como inmunosupresores y EICR activa.

Los crecimientos microbiológicos más frecuentes fueron las *Staphylococcus coagulasa negativo* y enterobacterias (*Klebsiella* y *Escherichia*).

En ningún paciente se produjo replicación del CMV, ni infecciones fúngicas tras la administración de las MSC.

- Estado de la enfermedad hematológica:

En ningún caso se reportó la recaída de la enfermedad hematológica tras la infusión de las MSC.

- Ingresos hospitalarios:

Durante el primer año tras la administración de las MSC 5 (71,4%) de los pacientes presentaron una mediana de 2 (0 - 4) ingresos hospitalarios, siendo predominantemente debido a nuevos episodios de EICR aguda, así como procesos infecciosos intercurrentes.

- Éxitus:

Al último seguimiento 2 (28,6%) pacientes habían fallecido (días 41 y 118 tras la infusión de las MSC), siendo únicamente en uno de ellos propiciado por la EICR aguda activa. En el otro caso fue debido a una infección bacteriana multirresistente, estando la EICR aguda en RC.

Siendo la mortalidad relacionada con la EICR de 14,8%.

4.6.2 PACIENTES PEDIÁTRICOS CON CITOPENIAS PERIFÉRICAS POSTRASPLANTE

En dicha complicación se administraron MSC en dos pacientes.

- Paciente 1:

Paciente de 8 años a la cual se le realizó un Alo-TPH de DnE 9/10 de MO con AMA con ICT, Cy, fludarabina y ATG como consecuencia de una anemia de Fanconi, usando como profilaxis de EICR tacrolimus y MMF.

La paciente en ningún momento presentó clínica compatible con EICR aguda, pero si desarrolló múltiples procesos infecciosos previos y/o concomitantes, como fueron reactivación de CMV (día +9), bacteriemia por *Lactobacillus rhamnosus* (día +12), candidemia y una meningoencefalitis por *Candida dubliniensis* y cistitis hemorrágica grado IV por *Poliomavirus* BK (día +22).

Había alcanzado el injerto hematopoyético inicialmente, y se encontraba en situación de RC de la enfermedad hematológica con quimerismo completo de MO en el momento de la infusión de las MSC.

Recibió las MSC por trombocitopenia ($9 \times 10^9/L$) con requerimientos transfusionales debido a una cistitis hemorrágica grado IV con documentación de *Poliomavirus* BK, motivo también del empleo de las MSC.

Las MSC se administraron después de 22 días tras el Alo-TPH. Se infundieron 4 dosis de MSC de $1,96 \times 10^6/$ kg de peso del receptor espaciadas por una semana cada una de ellas. Tras su administración no se detectó ninguna complicación, ni efecto secundario relacionado con la infusión de las MSC.

Se observó una respuesta en la cifra de plaquetas tras la administración de las MSC. Tras 16 días desde la administración de la primera dosis alcanzó $>50 \times 10^9/L$ plaquetas (RP), cifra que mantendría durante todo el seguimiento, logrando independencia transfusional, sin precisar otras líneas terapéuticas.

Al último seguimiento, la paciente había fallecido tras 290 días desde la infusión de las MSC. El motivo del éxitus fue una insuficiencia respiratoria secundaria a una bronconeumonía sin filiación microbiológica.

- Paciente 2:

Paciente de 2 años a la cual se le realizó un Alo-TPH de SCU 6/6 con AMA con fludarabina, busulfán y ATG debido a un síndrome de Hurler o mucopolisacaridosis tipo I, recibiendo como profilaxis de EICR CsA y MMF.

La paciente desarrolló un episodio de EICR aguda cutánea grado II (día +23) que alcanzó RC a corticoides sistémicos a dosis de 1 mg/kg. Sin presentar otras complicaciones tras el Alo-TPH.

Recibió las MSC tras haber alcanzado un injerto hematopoyético adecuado inicialmente, y encontrándose en situación de RC de la enfermedad hematológica con quimerismo completo de MO.

La administración de las MSC se solicitó por una trombocitopenia ($<1 \times 10^9/L$) que provocó una hemorragia intracraneal (+186). Previamente a la administración de las MSC la paciente recibió varias líneas terapéuticas sin respuestas mantenidas: corticoides, inmunoglobulinas, rituximab, vincristina y romiplostin.

Las MSC se administraron después de 270 días tras el Alo-TPH. Se infundieron 7 dosis de MSC de $3,95 \times 10^6/ \text{kg}$ de peso del receptor. Se infundieron dos tandas con pautas secuenciales, una de 4 dosis y otras de 3, separadas por un mes. Tras su administración no se detectó ninguna complicación, ni efecto secundario relacionado con la infusión de las MSC.

La paciente alcanzó RC en el día 13 tras la administración de la primera tanda de MSC, asociando múltiples líneas terapéuticas concomitantes (corticoides, inmunoglobulinas y romiplostin). Posteriormente presentó una caída de la cifra de plaquetas hasta $5 \times 10^9/L$ (+45 días tras la primera dosis), tras la cual recibió la segunda tanda, con la cual alcanzó RP tras 32 días y RC tras 44 días, cifra de plaquetas que mantendría en el tiempo.

Cabe destacar la conversión de la IgG del Parvovirus B19 durante el transcurso de estos episodios, por lo que es posible que las citopenias (hemoglobina >8 gr/dL, neutrófilos $>1.000/uL$ y plaquetas $<50 \times 10^9/L$, por lo que solo se consideró como línea a tratar la trombocitopenia) fuesen secundarias a una infección vírica.

En el último seguimiento tras 2614 días, la paciente continúa viva sin haber presentado complicaciones mayores relacionadas con el trasplante.

Ninguno de estos pacientes ha presentado recaída de la enfermedad hematológica, ni tampoco episodios de EICR posteriores al tratamiento celular.

4.6.3 PACIENTES PEDIÁTRICOS CON CISTITIS HEMORRÁGICA

Para dicha complicación se han empleado las MSC en dos pacientes.

- Paciente 1:

Paciente de 8 años a la cual se le realizó un Alo-TPH de DnE 9/10 de MO con AMA con ICT, Cy, fludarabina y ATG por anemia de Fanconi, usando como profilaxis de EICR tacrolimus y MMF.

Estando en situación de RC de la enfermedad hematológica en el momento de la infusión de las MSC. En ningún momento presentó clínica compatible con EICR aguda, pero si desarrolló múltiples procesos infecciosos previos y/o concomitantes, como fueron reactivación de CMV (día +9), bacteriemia por *Lactobacillus rhamnosus* (día +12), candidemia y una meningoencefalitis por *Candida dubliniensis* y cistitis hemorrágica grado IV por *Poliomavirus* BK (día +22).

Recibió las MSC a consecuencia de una cistitis hemorrágica grado IV con documentación vírica de *Poliomavirus* BK en orina, para la cual había recibido 3 líneas de tratamiento previamente sin respuesta (lavados vesicales con suero, instilaciones de ácido hialurónico intravesical y administración de cidofovir intravesical).

En el momento de la infusión de las MSC presentaba trombocitopenia ($9 \times 10^9/L$) con requerimientos transfusionales.

Las MSC se administraron tras 8 días desde el inicio de la clínica de la cistitis hemorrágica, y después de 22 tras el Alo-TPH. Se infundieron 4 dosis de MSC de $1,96 \times 10^6/$ kg de peso del receptor espaciadas por una semana cada una de ellas. Tras su administración no se detectó ninguna complicación, ni efecto secundario relacionado con la infusión de las MSC.

Se administraron las MSC de forma conjunta para la cistitis hemorrágica y la trombocitopenia periférica tras el trasplante. Presentó una clara mejoría de la clínica de la cistitis hemorrágica tras la primera dosis, así como un descenso de los requerimientos

transfusionales de hematíes y plaquetas, sin lograr RC. En cuanto a la trombocitopenia logró mantener cifras de plaquetas $>50 \times 10^9/L$ durante su seguimiento.

En la última evaluación, la paciente había fallecido tras 290 días desde la infusión de las MSC. El motivo del éxitus fue una insuficiencia respiratoria secundaria a una bronconeumonía sin filiación microbiológica.

- Paciente 2:

Paciente de 7 años al cual se le realizó un Alo-TPH de SCU 6/6 con AMA con fludarabina, busulfán, thiotepa y ATG debido a una crisis blástica de una LMC, recibiendo como profilaxis de EICR CsA y MMF.

Encontrándose en situación de RC de la enfermedad hematológica en el momento de la infusión de las MSC. No había desarrollado EICR aguda.

Recibió las MSC a consecuencia de una cistitis hemorrágica grado IV sin documentación vírica, y sin requerimientos transfusionales de plaquetas, para la cual había recibido 3 líneas de tratamiento previamente sin respuesta (lavados vesicales con suero, instilaciones de ácido hialurónico intravesical y administración de cidofovir intravesical).

Las MSC se administraron tras 16 días desde el inicio de la clínica de la cistitis hemorrágica, y después de 55 tras el Alo-TPH. Se infundió una dosis única de 68×10^6 MSC ($2,20 \times 10^6/ \text{kg}$ de peso del receptor). Tras su administración no se detectó ninguna complicación, ni efecto secundario relacionado con la infusión de las MSC.

Tras el tratamiento celular se objetivó una resolución completa de la clínica hemorrágica, con independencia de los requerimientos transfusionales de concentrados de hematíes.

Al último seguimiento, tras 1442 días de seguimiento, continúa vivo sin haber presentado complicaciones mayores relacionadas con el trasplante.

En ninguno de los pacientes se determinó la recaída de la enfermedad hematológica, ni tampoco episodios de EICR tras el tratamiento celular con MSC.

5 DISCUSIÓN

El presente trabajo de tesis doctoral tiene la originalidad de ser el primero, entre casi 130 tesis sobre MSC que constan en la base Teseo del Ministerio de Educación (<https://www.educacion.gob.es/teseo/>; acceso el 12/10/2020) que analiza en nuestro país la producción celular en condiciones GMP de células mesenquimales para uso clínico, y lo hace en una de las Unidades con mayor actividad en el campo del tratamiento de complicaciones del trasplante hematopoyético.

El trabajo además aporta un análisis detallado de los resultados clínicos obtenidos en el tratamiento de la EICR aguda, la EICR crónica, las citopenias postrasplante y la cistitis hemorrágica. En la literatura tampoco existen datos similares referidos a un único centro.

A continuación, comentaremos brevemente los aspectos más relevantes de los resultados obtenidos en el mismo.

En relación con la producción de MSC a partir de donantes sanos, hemos de indicar que se trata de un procedimiento complejo pero que, como otros autores consideran, es crítico para la consecución de un producto adecuado ^[343]. Según la normativa vigente al tratarse de un medicamento de terapias avanzadas (Reglamento CE número 1394/2007) sometido a manipulación sustancial *in vitro*, este producto celular debe estar fabricado en UPC de acuerdo con las Normas de Correcta Fabricación (GMP). Dichas normas trabajan bajo estrictos controles de calidad con el objetivo de evaluar la seguridad, la identidad, la viabilidad y la pureza del producto previamente a su liberación (Directriz sobre medicamentos a base de células humanas, EMEA/CHMP/410869/2006). Para dicho proceso existe un sistema de documentación compatible con GMP, protocolos de validación escritos y aprobados. Una vez concluida toda actividad ha de ser registrada en formularios apropiados.

En nuestro sistema de producción, las especificaciones que debían cumplir el producto final fueron corroboradas por controles de calidad de morfología, fenotipo, viabilidad, esterilidad, ausencia de contaminación por *Mycoplasma* y estabilidad genética).

En el presente análisis comprobamos que el proceso de producción es factible y eficiente, reflejando una elevada tasa de éxito en la producción de MSC alogénicas a partir de médula ósea de donantes sanos (97,8%), donde únicamente se presentó un fallo de la producción celular en dos donante. Para nosotros es clave que la fuente celular provenga

de donantes sometidos a los mismos criterios de selección que marcan los registros internacionales de donantes de progenitores hematopoyéticos, en cuanto a edad, ausencia de comorbilidades, y que las células se extraigan por un equipo validado y con experiencia en la extracción de médula ósea para trasplante hematopoyético [344].

Tras aplicar los pertinentes controles de calidad del producto se excluyeron algunos lotes no aptos para su administración, por lo que un 4,3% de los productos fueron desechados por presencia de alteraciones citogenéticas o crecimientos microbiológicos.

Con el objetivo de optimizar la producción celular se han estudiado perfiles de donantes que pudieran influir en este aspecto. En este contexto, se ha sugerido que la edad puede ser un factor influyente en la producción celular, aunque no es un factor limitante a la hora de obtener productos celulares satisfactorios. Los cohortes de edad que han reflejado un claro beneficio en la producción son las que implican a donantes menos de 18 años [337]. Además, se produce un aumento de la senescencia celular a mayor edad, así como un incremento de fracasos de producción en los mayores de 60 años [338]. En el presente trabajo, no se ha podido demostrar este hecho, puesto que nunca hemos incluido en nuestro programa de donación voluntaria a sujetos menores de edad, además de evitar en la medida de lo posible la selección de donantes de mayor edad (en toda nuestra serie hay un único donante mayor de 60 años). Aun así, cabe destacar, que los donantes que lograron criopreservar producto celular en todos los tres pases de cultivo realizados presentaban una edad claramente inferior a la mediana de edad de nuestra serie.

Por lo contrario, en cuanto al género, no se han comunicado en la literatura diferencias en la producción celular [339]. Datos concordantes se vieron reflejados en nuestra experiencia, donde no se observaron diferencias significativas en función del género, siendo similares las tasas de producción entre hombres y mujeres. A pesar de ello, es preciso mencionar, que los dos únicos fallos de producción se produjeron en mujeres, además, se observó una clara tendencia hacia el género masculino en los donantes que criopreservaron MSC en los tres pases realizados.

En otro ámbito, diversos estudios indican que la obesidad predispone a tasas de proliferación disminuidas, además de reducir los efectos antiinflamatorios de las MSC, de

tal forma que los donantes con dicha característica puedan no ser una fuente celular adecuada ^[340, 341]. Dicha conclusión no se ha visto reflejada en nuestros resultados, donde el IMC no ha influenciado de forma significativa en la producción celular. Por otra parte, no cabe duda de que los donantes con mayor peso pueden proporcionar un mayor número de células mononucleadas de partida, y, por tanto, un mayor número de MSC iniciales ^[345], aunque como hemos indicado nuestros resultados no apoyan esta hipótesis.

La producción de las MSC está sometida a una gran variabilidad en su fabricación en los distintos centros afiliados al EBMT, lo que quizá sea extrapolable a otras regiones del mundo ^[346]. La mayoría de los centros encuestados obtuvo las MSC a partir de MO (88%), presentando las principales diferencias en el medio de cultivo y sus suplementos. Así, la gran mayoría de las UPC ha sustituido el suero bovino fetal por lisado plaquetario humano. Otro hallazgo común es la administración de productos de un donante alternativo que han sido almacenados en lotes criopreservados (71%), lo cual satisface la necesidad de disponer un producto listo para usar ante una situación clínica que requiere disponer del tratamiento con cierta urgencia (como es el caso de la EICR aguda refractaria) ^[346].

Como describimos en el presente trabajo, en la UPC del CAUSA se producen MSC a partir de donación de MO empleando el lisado plaquetario como suplemento de cultivo, y criopreservando el producto obtenido para su administración posterior cuando sea requerido para su uso en el contexto del alotrasplante hematopoyético.

La demanda de MSC a fecha actual es una realidad, <https://clinicaltrials.gov/> recoge a fecha de octubre de 2020 más de 1.400 ensayos clínicos basados en el empleo de las MSC. Dado su amplio potencial terapéutico para múltiples aplicaciones, es presumible que su uso se vea incrementado en los próximos años. Dicha futurible demanda supera con creces la capacidad de los actuales sistemas de producción “manual”, poniendo de relieve la necesidad de sistemas más avanzados y automatizados. En la actualidad se están desarrollando sistemas que posibilitan el escalado de la producción, donde diversos biorreactores han demostrado su utilidad en este ámbito y están siendo evaluados y validados para este fin ^[347].

Unos de los aspectos más relevantes para tener en cuenta del empleo de las MSC es su perfil de seguridad. La seguridad de la administración intravenosa con MSC ha sido informada en dos metaanálisis donde se incluyeron más de 3.000 pacientes, donde no se detectó ninguna asociación con toxicidad aguda por la infusión, ni complicaciones orgánicas, infecciones, eventos tromboticos, muerte o malignidad, si asociando un mayor riesgo de fiebre transitoria ^[348, 349]. Al igual que lo reportado en la literatura, en nuestra experiencia, se observó un excelente perfil de seguridad. No se evidenciaron reacciones relacionadas con su infusión, ni efectos secundarios a medio-largo plazo (infecciones, eventos tromboticos, recaídas de las enfermedad hematológicas, neoplasias y/o muerte) relacionados de forma directa con la administración de las MSC. En este punto es relevante destacar la necesidad de un protocolo estandarizado para la infusión intravenosa de las MSC, primordialmente las criopreservadas, en las cuales se emplea como medio preservador el DMSO. Dichas células precisan premedicación con esteroides y dexclorfeniramina previo a su administración y así lo recogen nuestros protocolos de infusión.

Teniendo en cuenta el papel de las MSC como promotor de la función hematopoyética, además de sus propiedades inmunomoduladoras, es totalmente esperable que uno de los campos de potencial desarrollo terapéutico de estas células haya sido la hematología, destacando su empleo en las complicaciones más características del Alo-TPH.

En relación al tratamiento de la EICR aguda refractaria a esteroides, el problema clínico surge del elevado porcentaje de pacientes que presentan recaída o no responden tras esta primera línea terapéutica, condicionando un aumento de la mortalidad relacionada con esta complicación ^[96], siendo las MSC una terapia atractiva en este contexto.

En el presente trabajo, se ha observado el beneficio significativo de la administración de MSC como uso compasivo en la EICR aguda refractaria, presentando una tasas de RG del 81%, siendo estas completas del 48%. Tras la primera experiencia exitosa del empleo de MSC por el grupo de Katarina Le Blanc ^[277], se han publicado numeroso estudios en adultos. Nuestros resultados son equiparables a estos trabajos, donde las respuestas oscilan entre el 50 - 80%, con RC que oscilan entre el 10 - 50% ^[278-281, 291, 292, 294-296].

Al igual que en los estudios mencionados en la literatura, las respuestas observadas fueron superiores en las afectaciones cutáneas (82%) y de tracto digestivo (82%) [280], e inferiores en función del aumento de grado de afectación global (grado II 78%, grado III 50% y grado IV 35%). Al analizar posibles factores implicados en la respuesta, no se logró correlacionar ninguna característica del pacientes y del trasplante con lograr la misma [278, 280].

De igual forma a lo publicado en diversos estudios, se confirmó que los pacientes que alcanzaban la RC en el día 28 tras la administración de las MSC adquirieron una ventaja sobre la SG (supervivencia al año de 58% frente a 22%; $p=0,002$) [278, 280, 281, 296].

A pesar de estos resultados favorables, la mitad de los pacientes que logran respuesta a las MSC presentaron una nueva reactivación de la EICR aguda tras poco más de dos meses desde su administración. En este grupo de pacientes observamos que una segunda tanda/ciclo de MSC podría ser eficaz, pudiendo rescatar a un porcentaje de pacientes que se aproxima al 40%. En ningún estudio publicado hemos encontrado alusión a la eficacia del empleo de retratamientos con MSC, siendo este un aspecto para tener en cuenta en las recaídas de las EICR aguda.

Actualmente no existe un consenso sobre el tratamiento de rescate de los pacientes refractarios a esteroides, en este ámbito son diversas las líneas terapéuticas empleadas.

Dentro de estas terapias frente a las EICR aguda refractaria, destaca la FAE, la cual ha reportado una elevada tasa de RC, cercana al 80% en las afectaciones cutáneas. Además, de demostrar un beneficio sobre la supervivencia en los pacientes que alcanzaron la RC (59% frente a 11%) [137, 138]. En comparación con nuestra experiencia con las MSC observamos principalmente un beneficio de esta línea sobre las afectaciones cutáneas (59% de RC con MSC), sin evidenciar una ganancia reseñable sobre el resto de las afectaciones, ni en la supervivencia. Además, es reseñable destacar que este procedimiento no está exento de efectos secundarios, principalmente los derivados del empleo de catéteres venosos (infecciones, eventos hemorrágicos y trombóticos), además de los relacionados con la circulación extracorpórea (alteraciones iónicas).

Por otro lado, en los últimos años ha ganado relevancia el empleo de ruxolitinib, aprobado recientemente por la FDA para esta indicación, que consigue unas tasas de RG

del 73% (completas 56%) a lo largo del seguimiento, con independencia del grado de afectación y del órgano afecto por la EICR aguda [145]. Estos datos son equiparables a los observados en nuestro estudio, con tasas de respuestas similares y presentes en todos los grados y afectaciones. Es importante incidir, que el empleo de ruxolitinib no está exento de efectos secundarios, siendo los más limitantes los eventos infecciosos, la reactivación del CMV y las citopenias (anemia y trombocitopenia).

Con un mayor tiempo de experiencia, múltiples fármacos han sido probados en la EICR aguda refractaria, en este aspecto destacamos los siguientes. En primer lugar, el empleo de ATG en esta complicación ha reportado tasas de RG del 20 - 50%, llegando estas al 70% en las afectaciones cutáneas [108-110]. La administración de anticuerpos anti-TNF α ha demostrado respuestas entre el 50 - 60%, principalmente en las afectaciones gastrointestinales [123-127]. Con la pentostatina se han observado tasas de respuestas cercanas al 60% [135]. El empleo de inmunosupresores como el MMF y la rapamicina reportaron respuestas próximas al 60% [129-132, 134, 135]. En conjunto, ninguna de estas líneas terapéuticas ha reportado tasas de respuestas superiores a las observadas en el presente trabajo con MSC. Además, remarcamos, de nuevo, el posible perfil de toxicidad deletéreo observado en estas terapias, tales como infecciones virales (pentostatina), infecciones fúngicas (anti-TNF α), toxicidad neurológica y microangiopatía trombótica (rapamicina).

Al confrontar los resultados obtenidos entre las diversas opciones terapéuticas, los resultados con MSC son equiparables o superiores a las terapias actualmente empleadas para la EICR aguda refractaria. En este ámbito, ante la presencia de esta complicación, la cual por si misma aumenta el riesgo de eventos infecciosos, y por lo tanto a un aumento de la mortalidad, la selección de una medida terapéutica eficaz y segura debería ser la opción más atractiva, en este aspecto las MSC presentan una opción que ha de considerarse en este contexto. Por contra, su implementación presenta una limitación, el requerimiento de instalaciones y acreditaciones pertinentes para su fabricación, así como la necesidad de un programa de donación propio y establecido.

Con respecto al tratamiento de la EICR crónica, tras una primera línea terapéutica establecida basada en la combinación de prednisona y un inhibidor de calcineurina ^[168], más de la mitad de los pacientes requieren una segunda línea de tratamiento dentro de los 2 años posteriores a la terapia inicial ^[169].

De igual forma, aunque con mucha menor experiencia publicada, diversos estudios han sugerido el beneficio del empleo de MSC en los pacientes con EICR crónica refractaria ^[279, 297-300].

En la experiencia del presente trabajo, comenzaremos poniendo de relieve la dificultad a la hora de recapitular la información de forma retrospectiva en pacientes que han recibido las MSC por uso compasivo. Tanto la clasificación de la graduación inicial, y las respuestas alcanzadas son difícilmente extrapolables a las escalas actualmente implementadas (NIH 2014 y *Response Criteria Working Group*) ^[74]. La información que no puede ser extrapolable por datos medibles (función hepática y pulmonar), fue guiada por la evaluación clínica realizada, estando está sujeta a la transcripción de la información descrita en las historias clínicas, lo cual no cabe duda es una limitación importante de nuestro estudio.

Con estas premisas, en el presente trabajo, la administración de MSC en dicha complicación se acompañó de una elevada tasa de respuestas (93%), siendo prácticamente todas ellas RP (72%), debido a que en muchos pacientes no se pudo catalogar como RC por persistencia de sintomatología a nivel ocular, a pesar de observarse una mejoría franca de la sintomatología. Estas respuestas fueron ligeramente superiores a las publicadas en la bibliografía, los cuales describieron respuestas en torno al 60 - 80% ^[279, 297-300]. Al igual que en lo publicado, confirmamos que las respuestas fueron más profundas en las afectaciones cutáneas y de la mucosa oral ^[299].

Al igual que lo observado en la EICR aguda, se demostró un beneficio sobre la SG en los pacientes que lograron alcanzar respuesta a administración de las MSC (supervivencia al año: 86% frente a 33%; $p=0,034$), datos no reportados en los estudios publicados hasta la fecha, donde no se apreciaron diferencias significativas en la supervivencia entre los paciente con EICR crónica refractaría que recibían tratamiento con MSC, frente a otras líneas ^[299].

A pesar de la alta tasa de respuestas logradas, más del 50% de los pacientes precisaron nuevas líneas de tratamiento para la EICR crónica, principalmente para mejorar o mantener la respuesta alcanzada.

Un aspecto importante que resaltar con la adición de nuevas líneas terapéuticas, es la posibilidad de discontinuación de las terapias inmunosupresoras concomitantes, con vistas a reducir los efectos secundarios de estas. En nuestra experiencia, realizando la evaluación a los 3 meses, observamos que el 7% de los pacientes lograban la suspensión completa de los inmunosupresores sistémicos, siendo del 50% en el caso de los corticoides sistémicos. En la bibliografía también se ha observado este beneficio, y en otros trabajos la administración de MSC se asoció con una suspensión completa de la terapia con corticoides, y de aproximadamente el 30% de los inmunosupresores al año de recibir la infusión [299, 300].

Al realizar la comparación con el gran abanico de líneas terapéuticas empleadas en la actualidad es primordial incidir en la tasa de respuestas en función del órgano afecto, ya que a pesar de presentar respuestas globales similares entre ellas (60 - 80%), el beneficio en casos de afectación de distintas localizaciones es variable.

Los estudios con rituximab han mostrado tasas de respuestas del 70 - 80%, siendo estas principalmente a nivel cutáneo y musculoesquelético [177-179]. La FAE es una de las estrategias terapéuticas más contrastadas en la EICR crónica, diversos estudios han descrito RG del 60 - 70%, observándose un mayor beneficio en las afectaciones cutáneas y de la mucosa oral, que consigue una reducción o suspensión del tratamiento inmunosupresor en un 80% de los pacientes [140, 141, 180-182]. Con imatinib se ha descrito cerca de un 80% de respuestas, principalmente en las formas esclerosantes de la enfermedad cutánea [183-185]. De igual forma, se apreció un beneficio predominante en dicha afectación con el empleo de ibrutinib, alcanzando tasas de RG del 69%. Además de observarse una suspensión completa del tratamiento con corticosteroides tras su administración [187, 188]. Como consecuencia, la FDA aprobó en 2017 el empleo de ibrutinib en el tratamiento de la EICR crónica resistente a primera línea, siendo el primer fármaco en alcanzar este hito. Al igual que en EICR aguda, ruxolitinib se ha evaluado en EICR crónica, observándose un 85% de respuestas en múltiples órganos afectados [143]. Además

de reportar discontinuaciones de la terapia inmunosupresora en el 68%, y la disminución en el 21% de los pacientes ^[189].

Al contrastar estos resultados con los obtenidos con la infusión de MSC observamos que algunos tratamientos presentan un mayor beneficio en función del órgano que se vea afectado por la EICR crónica, además de describirse tasas de discontinuación o disminución de la terapia inmunosupresora superiores a las MSC (FAE del 80% y ruxolitinib cercanas al 90%).

Es importante incidir de nuevo, en el perfil de seguridad de estos fármacos, alguno de ellos mencionado previamente. No exento de complicaciones derivadas de su administración, principalmente eventos infecciosos, diátesis hemorrágicas y citopenias.

En este aspecto podemos considerar que, en el contexto de la EICR crónica, contamos con un gran arsenal de medidas terapéuticas, las cuales han de ser seleccionadas en función del perfil de afectación de cada paciente. Las MSC, con su óptimo perfil de seguridad y su beneficio principal sobre las afectaciones cutáneas y de la mucosa oral, son otra medida terapéutica para tener en cuenta, dentro de muchas otras posibilidades.

Con respecto a las citopenias tras la realización de un Alo-TPH son una complicación grave y de origen multifactorial, aunque los trastornos autoinmunes desempeñan un importante papel. Además, la afectación del nicho hematopoyético, que siguen siendo del receptor, puede sufrir una disminución de la capacidad hematopoyética postrasplante, a consecuencia de las terapias previas, así como de la EICR.

Debido a las experiencias descritas por su capacidad progenitora sobre el nicho hematopoyético ^[274, 275, 283, 284, 302-304], y como tratamiento de la EICR ^[278-281, 291, 292, 294-296], posiblemente implicada en la aparición de las citopenias, se sugiere que las MSC podrían ser un tratamiento factible y potencialmente eficaz en el contexto de las citopenias periféricas postrasplante, siendo la experiencia en este ámbito muy limitada. Destaca en este en este ámbito el trabajo preliminar realizado por nuestro grupo, en el cual se publicó por primera vez el empleo de MSC en citopenias periféricas después de la recuperación hematológica completa tras el trasplante, con una recuperación completa

de las cifras periféricas en los cuatro pacientes comunicados (3 trombocitopenias y una neutropenia) [307].

La experiencia generada en el análisis de la presente tesis doctoral comprueba la eficacia del uso de las MSC en esta complicación, con una elevada tasa de respuestas (80%), siendo estas completas del 44%. Destacamos en beneficio principal sobre las monocitopenias (trombocitopenia 61% y neutropenia 87%). Al analizar factores relacionados con la respuesta, no se logró correlacionar ninguna característica del pacientes y del trasplante con esta.

En nuestros resultados, destacamos que los pacientes que alcanzaron RC presentaron un beneficio en la supervivencia (supervivencia a 3 años: 91% frente a 43%; $p=0,009$), siendo éxitos como consecuencia de la citopenia sólo un reducido número de pacientes (6,7%).

En el contexto de esta complicación existen escasas medidas terapéuticas tras el empleo de corticoesteroides. Además de los factores de crecimiento hematopoyéticos clásicos (G-CSF, EPO) [208, 236], en estos pacientes refractarios se han observado respuestas con el empleo de Igs polivalentes [231] y rituximab [232, 233], con tasas de respuestas muy variables. Más reciente, el uso los análogos de TPO en la trombocitopenia ha demostrado alcanzar respuestas favorables en cercada del 70% de los pacientes [209, 211]. Además, también se ha observado beneficio sobre otras citopenias postrasplante (leucopenia y anemia) [235].

Podemos concluir en este ámbito, que las MSC en las citopenias periféricas postrasplante refractarias son una terapia factible, segura y potencialmente eficaz, presentando una mejoría de las respuestas obtenidas con las líneas terapéuticas presentes hasta el momento, únicamente igualables con el empleo de los análogos de TPO en las trombocitopenias.

La experiencia en el tratamiento de la cistitis hemorrágica es muy escasa. En la serie más grande publicada, el tratamiento de 7 pacientes con MSC obtuvo una elevada tasa de RC (71%) [308]. En el presente trabajo observamos que el empleo de MSC en la cistitis produce una mejoría de la clínica en todos los pacientes tras la primera dosis, así como un descenso de los requerimientos transfusionales de hematíes y plaquetas. Logrando a alcanzar una tasa de RC del 80% tras la administración de las siguientes dosis.

Por lo tanto, a pesar de la poca experiencia publicada, con un escaso número de pacientes, observamos que la administración de las MSC en esta complicación es una potencialmente útil, pudiendo emplearse como línea terapéutica opcional a las más empleadas (lavados vesicales con suero, instilaciones de ácido hialurónico intravesical y administración de cidofovir intravesical). Siendo esta una terapia segura y de sencilla administración.

Finalmente, con respecto a los datos en pacientes en edad pediátrica, al igual que en los adultos, los estudios publicados sugieren que el tratamiento con MSC en la población pediátrica es seguro y potencialmente eficaz. Además, los resultados del tratamiento en niños demostraron ser más beneficiosos que en los adultos.

El EBMT publicó un ensayo clínico fase 2 con 55 pacientes (30 adultos y 25 niños), donde más de la mitad de los pacientes obtuvieron una RC, siendo estas superiores en la población pediátrica (68% de los niños frente al 43% de los adultos) ^[278]. Ball reportó los resultados de 37 pacientes en edad pediátrica afectados de EICR aguda refractaria a esteroides, obteniendo una tasa de RC fue del 65%, siendo superior en los pacientes que recibieron múltiples dosis de MSC ^[282]. De igual forma, Introna observó que los 15 niños de su estudio obtuvieron mejores respuestas que en los adultos (25) ^[292].

En nuestra serie observamos este beneficio sobre la población pediátrica, observando una tasa de respuestas del 86% (en adultos 81%), siendo este mayor en las RC (57% frente 48%), siendo estas equiparables a la experiencia publicada.

Dichos resultados se vieron acompañados del mismo perfil de seguridad observado en los adultos, sin evidenciarse efectos secundarios asociados a las MSC ^[278, 282, 290, 292, 293].

6 CONCLUSIONES

Con respecto al proceso de producción celular de MSC de médula ósea para su empleo en diversas complicaciones post- alotrasplante hematopoyético:

1. El procedimiento de extracción de médula ósea de 92 donantes sanos analizados permitió, en todos los casos, obtener el volumen necesario (en torno a 100 mL) con una mediana de duración de 30 minutos y no se asoció a efectos adversos graves posteriores.
2. No encontramos ninguna característica relacionada con los donantes que se asociara de forma significativa con el resultado final de la producción celular.
3. La tasa de fallo de producción en nuestra serie fue del 2,2% y la tasa de productos finales desechados fue del 4,3%.

En relación con el proceso de administración celular y sus efectos secundarios inmediatos:

4. No se han detectado efectos adversos relacionados con la administración celular ni en las horas ni días posteriores a la misma.

Con respecto a las respuestas obtenidas tras el tratamiento celular en las distintas complicaciones y sus correlaciones con parámetros clínicos y/o biológicos:

5. En el tratamiento de la EICR aguda refractaria, con una mediana de dos líneas de tratamiento previas, la administración de MSC presenta una tasa de respuestas globales del 80%, con un 48% de respuestas completas en el día 28 tras la primera dosis.

6. La tasa de respuestas fue superior en la afectación cutánea y digestiva en relación con la afectación hepática, y fue mayor en los pacientes sometidos a un acondicionamiento de intensidad reducida. Igualmente, la tasa de respuestas fue mayor en aquellos pacientes con un menor grado global de EICR aguda.

7. Los pacientes que alcanzan una respuesta completa al día +28 tiene una ventaja significativa en la supervivencia respecto a los que no la alcanzan (mediana de 28 meses frente a 5 meses).

8. Las MSC en el tratamiento de la EICR crónica presentan una tasa de respuestas a los 90 días de su administración (mayoritariamente respuestas parciales) en el 75% de los pacientes, especialmente en aquellos con afectación ocular.

9. En aquellos pacientes con EICR crónica que están recibiendo tratamiento inmunosupresor esteroideo, la administración de MSC permite suspender dicho tratamiento en el 50% de ellos, y reducir la dosis en otro 28% adicional.

10. Aunque el número de pacientes tratados es bajo (20 pacientes) aquellos que responden al tratamiento de la EICR crónica tienen una ventaja significativa en la supervivencia global.

11. Las MSC como tratamiento de las citopenias postrasplante hematopoyético presentan una tasa de respuestas globales del 80% a los 90 días, con un 44% de respuestas completas.

12. Las citopenias únicas presentan mayores tasas de respuesta al tratamiento celular, que son mayores en las neutropenias y trombocitopenias con respecto a la anemia.

13. Los pacientes que alcanzan RC con el tratamiento celular tienen una ventaja significativa en la supervivencia.

14. En el tratamiento de la cistitis hemorrágica en una muestra preliminar de 5 pacientes, las MSC, con resolución completa de la clínica hemorrágica en la mayoría de los pacientes tras dos dosis celulares.

15. Los resultados del tratamiento con MSC en pacientes pediátricos, donde nuestra serie es mucho menor, son superiores a los obtenidos en la serie global.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Duarte, R.F., et al., *Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019*. 2019.
2. Osgood, E.E., M.C. Riddle, and T.J. Mathews, *Aplastic Anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report*. *Annals of Internal Medicine*, 1939. **13**(2): p. 357-367.
3. Santos, G.W., *History of bone marrow transplantation*. *Clin Haematol*, 1983. **12**(3): p. 611-39.
4. Jacobson, L.O., et al., *Recovery from radiation injury*. *Science*, 1951. **113**(2940): p. 510-11.
5. Lorenz, E., et al., *Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections*. *J Natl Cancer Inst*, 1951. **12**(1): p. 197-201.
6. Barnes, D.W. and J.F. Loutit, *Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. II*. *Br J Haematol*, 1957. **3**(3): p. 241-52.
7. Thomas, E.D., et al., *Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy*. *N Engl J Med*, 1957. **257**(11): p. 491-6.
8. Andrews, G.A., *Criticality accidents in Vinca, Yugoslavia, and Oak Ridge, Tennessee. Comparison of radiation injuries and results of therapy*. *Jama*, 1962. **179**: p. 191-7.
9. Bortin, M.M., *A compendium of reported human bone marrow transplants*. *Transplantation*, 1970. **9**(6): p. 571-87.
10. Thomas, E.D., Sr., *Stem cell transplantation: past, present and future*. *Stem Cells*, 1994. **12**(6): p. 539-44.
11. Miescher, P. and M. Fauconnet, *[Antigenic components of the polynuclear leukocyte and their clinical importance]*. *Schweiz Med Wochenschr*, 1954. **84**(36): p. 1036-8.
12. Dausset, J., *[Iso-leuko-antibodies]*. *Acta Haematol*, 1958. **20**(1-4): p. 156-66.
13. Dausset, J., et al., *[Studies on transplantation antigens (HL-A) by means of skin grafts from 90 children onto their fathers]*. *Nouv Rev Fr Hematol*, 1969. **9**(2): p. 215-29.
14. van Rood, J.J., *The detection of transplantation antigens in leukocytes*. *Semin Hematol*, 1968. **5**(2): p. 187-214.
15. Bach, F.H., et al., *Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome*. *Lancet*, 1968. **2**(7583): p. 1364-6.
16. De Koning, J., et al., *Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency*. *Lancet*, 1969. **1**(7608): p. 1223-7.
17. Goodman, J.W. and G.S. Hodgson, *Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice*. *Blood*, 1962. **19**: p. 702-14.
18. Juttner, C.A., et al., *Successful peripheral blood stem-cell autograft with a near-critical dose of myeloid progenitor cells in acute non-lymphoblastic leukaemia in relapse*. *Med J Aust*, 1987. **147**(6): p. 292-3.
19. Gluckman, E., et al., *Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling*. *N Engl J Med*, 1989. **321**(17): p. 1174-8.
20. Speck, B., et al., *Allogeneic bone marrow transplantation in a patient with aplastic anemia using a phenotypically HL-A-identifcal unrelated donor*. *Transplantation*, 1973. **16**(1): p. 24-8.
21. Luznik, L., et al., *HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2008. **14**(6): p. 641-50.
22. Carella, A.M., et al., *Mini-allografts: ongoing trials in humans*. *Bone Marrow Transplant*, 2000. **25**(4): p. 345-50.
23. Champlin, R., et al., *Reinventing bone marrow transplantation: reducing toxicity using nonmyeloablative, preparative regimens and induction of graft-versus-malignancy*. *Curr Opin Oncol*, 1999. **11**(2): p. 87-95.

24. Giralto, S., et al., *Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy*. *Blood*, 1997. **89**(12): p. 4531-6.
25. Martino, R., et al., *Reduced-intensity conditioning reduces the risk of severe infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation*. *Bone Marrow Transplant*, 2001. **28**(4): p. 341-7.
26. Bacigalupo, A., et al., *Reducing transplant-related mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. *Haematologica*, 2004. **89**(10): p. 1238-47.
27. Weisser, M., et al., *Secular trends of bloodstream infections during neutropenia in 15 181 haematopoietic stem cell transplants: 13-year results from a European multicentre surveillance study (ONKO-KISS)*. *Clin Microbiol Infect*, 2017. **23**(11): p. 854-859.
28. Girmenia, C., et al., *Incidence, Risk Factors and Outcome of Pre-engraftment Gram-Negative Bacteremia After Allogeneic and Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Italian Prospective Multicenter Survey*. *Clin Infect Dis*, 2017. **65**(11): p. 1884-1896.
29. Mikulska, M., et al., *Pre-Engraftment Bloodstream Infections after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Impact of T Cell-Replete Transplantation from a Haploidentical Donor*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018. **24**(1): p. 109-118.
30. Mikulska, M., et al., *Aetiology and resistance in bacteraemias among adult and paediatric haematology and cancer patients*. *J Infect*, 2014. **68**(4): p. 321-31.
31. Averbuch, D., et al., *Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Rods Causing Bacteremia in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Intercontinental Prospective Study of the Infectious Diseases Working Party of the European Bone Marrow Transplantation Group*. *Clin Infect Dis*, 2017. **65**(11): p. 1819-1828.
32. Bertz, H., K. Drognitz, and J. Finke, *Analysis of the efficiency and costs of antifungal prophylaxis and mycological diagnostics in patients undergoing allogeneic haematopoietic cell transplantation: "real life" evaluation*. *Ann Hematol*, 2016. **95**(3): p. 457-63.
33. Yahav, D., et al., *Antiviral prophylaxis in haematological patients: systematic review and meta-analysis*. *Eur J Cancer*, 2009. **45**(18): p. 3131-48.
34. Gandhi, M.K., et al., *Human cytomegalovirus-specific immunity following haemopoietic stem cell transplantation*. *Blood Rev*, 2003. **17**(4): p. 259-64.
35. Pinana, J.L., et al., *Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: single-centre experience*. *Bone Marrow Transplant*, 2010. **45**(3): p. 534-42.
36. Ullmann, A.J., et al., *Infectious diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: prevention and prophylaxis strategy guidelines 2016*. *Ann Hematol*, 2016. **95**(9): p. 1435-55.
37. Ljungman, P., et al., *Guidelines for the management of cytomegalovirus infection in patients with haematological malignancies and after stem cell transplantation from the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7)*. *Lancet Infect Dis*, 2019. **19**(8): p. e260-e272.
38. Kontoyiannis, D.P., et al., *Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database*. *Clin Infect Dis*, 2010. **50**(8): p. 1091-100.
39. Girmenia, C., et al., *Incidence and outcome of invasive fungal diseases after allogeneic stem cell transplantation: a prospective study of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO)*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014. **20**(6): p. 872-80.
40. Blennow, O., et al., *Risk Factors for Invasive Mold Infections and Implications for Choice of Prophylaxis after Allogeneic Stem Cell Transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016. **22**(9): p. 1684-1689.

41. Cesaro, S., et al., *Incidence, Risk Factors, and Long-term Outcome of Acute Leukemia Patients With Early Candidemia After Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Study by the Acute Leukemia and Infectious Diseases Working Parties of European Society for Blood and Marrow Transplantation*. Clin Infect Dis, 2018. **67**(4): p. 564-572.
42. Bow, E.J., et al., *Systematic review and mixed treatment comparison meta-analysis of randomized clinical trials of primary oral antifungal prophylaxis in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients*. BMC Infect Dis, 2015. **15**: p. 128.
43. Styczynski, J., et al., *Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia*. Bone Marrow Transplant, 2009. **43**(10): p. 757-70.
44. Hirsch, H.H., et al., *Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis and treatment of human respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, metapneumovirus, rhinovirus, and coronavirus*. Clin Infect Dis, 2013. **56**(2): p. 258-66.
45. Engelhard, D., et al., *European guidelines for prevention and management of influenza in hematopoietic stem cell transplantation and leukemia patients: summary of ECIL-4 (2011), on behalf of ECIL, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, and ELN*. Transpl Infect Dis, 2013. **15**(3): p. 219-32.
46. Billingham, R.E. and L. Brent, *Quantitative Studies on Tissue Transplantation Immunity. IV. Induction of Tolerance in Newborn Mice and Studies on the Phenomenon of Runt Disease*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 1959. **242**(694): p. 439-477.
47. Ferrara, J.L., et al., *Graft-versus-host disease*. Lancet, 2009. **373**(9674): p. 1550-61.
48. Markey, K.A., K.P. MacDonald, and G.R. Hill, *The biology of graft-versus-host disease: experimental systems instructing clinical practice*. Blood, 2014. **124**(3): p. 354-62.
49. Hill, G.R. and J.L. Ferrara, *The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation*. Blood, 2000. **95**(9): p. 2754-9.
50. Nestel, F.P., et al., *Macrophage priming and lipopolysaccharide-triggered release of tumor necrosis factor alpha during graft-versus-host disease*. The Journal of Experimental Medicine, 1992. **175**(2): p. 405-413.
51. Via, C.S. and F.D. Finkelman, *Critical role of interleukin-2 in the development of acute graft-versus-host disease*. Int Immunol, 1993. **5**(6): p. 565-72.
52. Briones, J., S. Novelli, and J. Sierra, *T-cell costimulatory molecules in acute-graft-versus host disease: therapeutic implications*. Bone Marrow Res, 2011. **2011**: p. 976793.
53. Wysocki, C.A., et al., *Leukocyte migration and graft-versus-host disease*. Blood, 2005. **105**(11): p. 4191-9.
54. Schmaltz, C., et al., *Differential use of Fas ligand and perforin cytotoxic pathways by donor T cells in graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia effect*. Blood, 2001. **97**(9): p. 2886-95.
55. Wasem, C., et al., *Accumulation and activation-induced release of preformed Fas (CD95) ligand during the pathogenesis of experimental graft-versus-host disease*. J Immunol, 2001. **167**(5): p. 2936-41.
56. Remberger, M., et al., *Serum levels of cytokines correlate to donor chimerism and acute graft-vs.-host disease after haematopoietic stem cell transplantation*. Eur J Haematol, 2003. **70**(6): p. 384-91.
57. Cooke, K.R., et al., *The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease*. Biol Blood Marrow Transplant, 2017. **23**(2): p. 211-234.

58. Rozmus, J., et al., *Early and late extensive chronic graft-versus-host disease in children is characterized by different Th1/Th2 cytokine profiles: findings of the Children's Oncology Group Study ASCT0031*. Biol Blood Marrow Transplant, 2011. **17**(12): p. 1804-13.
59. Brügger, M.C., et al., *Diverse T-cell responses characterize the different manifestations of cutaneous graft-versus-host disease*. Blood, 2014. **123**(2): p. 290-9.
60. Weinberg, K., et al., *Factors affecting thymic function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Blood, 2001. **97**(5): p. 1458-66.
61. Sakoda, Y., et al., *Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2007. **109**(4): p. 1756-64.
62. Zorn, E., et al., *Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2005. **106**(8): p. 2903-11.
63. Clark, F.J., et al., *Chronic graft-versus-host disease is associated with increased numbers of peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells*. Blood, 2004. **103**(6): p. 2410-6.
64. Trenado, A., et al., *Recipient-type specific CD4+CD25+ regulatory T cells favor immune reconstitution and control graft-versus-host disease while maintaining graft-versus-leukemia*. J Clin Invest, 2003. **112**(11): p. 1688-96.
65. Sarantopoulos, S., et al., *Altered B-cell homeostasis and excess BAFF in human chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2009. **113**(16): p. 3865-74.
66. Allen, J.L., et al., *Increased BCR responsiveness in B cells from patients with chronic GVHD*. Blood, 2014. **123**(13): p. 2108-15.
67. Dubovsky, J.A., et al., *Ibrutinib treatment ameliorates murine chronic graft-versus-host disease*. J Clin Invest, 2014. **124**(11): p. 4867-76.
68. Srinivasan, M., et al., *Donor B-cell alloantibody deposition and germinal center formation are required for the development of murine chronic GVHD and bronchiolitis obliterans*. Blood, 2012. **119**(6): p. 1570-80.
69. Jin, H., et al., *Antibodies from donor B cells perpetuate cutaneous chronic graft-versus-host disease in mice*. 2016. **127**(18): p. 2249-60.
70. Wynn, T.A. and T.R. Ramalingam, *Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease*. Nat Med, 2012. **18**(7): p. 1028-40.
71. Forcade, E., et al., *An activated Th17-prone T cell subset involved in chronic graft-versus-host disease sensitive to pharmacological inhibition*. JCI Insight, 2017. **2**(12).
72. Shulman, H.M., et al., *Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients*. Am J Med, 1980. **69**(2): p. 204-17.
73. Filipovich, A.H., et al., *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, 2005. **11**(12): p. 945-56.
74. Jagasia, M.H., et al., *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, 2015. **21**(3): p. 389-401.e1.
75. Vogelsang, G.B., L. Lee, and D.M. Bensen-Kennedy, *Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant*. Annu Rev Med, 2003. **54**: p. 29-52.
76. Couriel, D., et al., *Acute graft-versus-host disease: pathophysiology, clinical manifestations, and management*. Cancer, 2004. **101**(9): p. 1936-46.
77. Glucksberg, H., et al., *Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors*. Transplantation, 1974. **18**(4): p. 295-304.
78. Przepiorka, D., et al., *1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading*. Bone Marrow Transplant, 1995. **15**(6): p. 825-8.
79. Rowlings, P.A., et al., *IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade*. Br J Haematol, 1997. **97**(4): p. 855-64.

80. Petersdorf, E.W., et al., *Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient*. Blood, 1998. **92**(10): p. 3515-20.
81. McGlave, P.B., et al., *Unrelated donor marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: 9 years' experience of the national marrow donor program*. Blood, 2000. **95**(7): p. 2219-25.
82. Cornelissen, J.J., et al., *Unrelated marrow transplantation for adult patients with poor-risk acute lymphoblastic leukemia: strong graft-versus-leukemia effect and risk factors determining outcome*. Blood, 2001. **97**(6): p. 1572-7.
83. Hurley, C.K., et al., *National Marrow Donor Program HLA-matching guidelines for unrelated marrow transplants*. Biol Blood Marrow Transplant, 2003. **9**(10): p. 610-5.
84. Hahn, T., et al., *Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia*. J Clin Oncol, 2008. **26**(35): p. 5728-34.
85. Weisdorf, D., et al., *Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation*. Transplantation, 1991. **51**(6): p. 1197-203.
86. Eisner, M.D. and C.S. August, *Impact of donor and recipient characteristics on the development of acute and chronic graft-versus-host disease following pediatric bone marrow transplantation*. Bone Marrow Transplant, 1995. **15**(5): p. 663-8.
87. Flowers, M.E., et al., *Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria*. Blood, 2011. **117**(11): p. 3214-9.
88. Kollman, C., et al., *Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age*. Blood, 2001. **98**(7): p. 2043-51.
89. Nash, R.A., et al., *Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors*. Blood, 2000. **96**(6): p. 2062-8.
90. Jacobsen, N., et al., *Graft-versus-leukaemia activity associated with CMV-seropositive donor, post-transplant CMV infection, young donor age and chronic graft-versus-host disease in bone marrow allograft recipients. The Nordic Bone Marrow Transplantation Group*. Bone Marrow Transplant, 1990. **5**(6): p. 413-8.
91. Cutler, C., et al., *Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis*. J Clin Oncol, 2001. **19**(16): p. 3685-91.
92. Chien, J.W., et al., *Evaluation of published single nucleotide polymorphisms associated with acute GVHD*. Blood, 2012. **119**(22): p. 5311-9.
93. Holtan, S.G., M. Pasquini, and D.J. Weisdorf, *Acute graft-versus-host disease: a bench-to bedside update*. Blood, 2014. **124**(3): p. 363-73.
94. Manzo, V.E. and A.S. Bhatt, *The human microbiome in hematopoiesis and hematologic disorders*. 2015. **126**(3): p. 311-8.
95. Peled, J.U., A.M. Hanash, and R.R. Jenq, *Role of the intestinal mucosa in acute gastrointestinal GVHD*. Blood, 2016. **128**(20): p. 2395-2402.
96. Martin, P.J., et al., *A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment*. Blood, 1990. **76**(8): p. 1464-72.
97. Furlong, T., et al., *Clinical outcome after conversion to FK 506 (tacrolimus) therapy for acute graft-versus-host disease resistant to cyclosporine or for cyclosporine-associated toxicities*. Bone Marrow Transplant, 2000. **26**(9): p. 985-91.
98. Jacobsohn, D.A. and G.B. Vogelsang, *Novel pharmacotherapeutic approaches to prevention and treatment of GVHD*. Drugs, 2002. **62**(6): p. 879-89.

99. Ruutu, T., et al., *Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice*. Bone Marrow Transplant, 2014. **49**(2): p. 168-73.
100. Van Lint, M.T., et al., *Early treatment of acute graft-versus-host disease with high- or low-dose 6-methylprednisolone: a multicenter randomized trial from the Italian Group for Bone Marrow Transplantation*. Blood, 1998. **92**(7): p. 2288-93.
101. MacMillan, M.L., et al., *Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems*. Biol Blood Marrow Transplant, 2002. **8**(7): p. 387-94.
102. Weisdorf, D., et al., *Treatment of moderate/severe acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation: an analysis of clinical risk features and outcome*. Blood, 1990. **75**(4): p. 1024-30.
103. Westin, J.R., et al., *Steroid-Refractory Acute GVHD: Predictors and Outcomes*. Adv Hematol, 2011. **2011**: p. 601953.
104. Deeg, H.J., *How I treat refractory acute GVHD*. Blood, 2007. **109**(10): p. 4119-26.
105. Kim, S.S., *Treatment options in steroid-refractory acute graft-versus-host disease following hematopoietic stem cell transplantation*. Ann Pharmacother, 2007. **41**(9): p. 1436-44.
106. Martin, P.J., et al., *First- and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation*. Biol Blood Marrow Transplant, 2012. **18**(8): p. 1150-63.
107. Axt, L., et al., *Retrospective single center analysis of outcome, risk factors and therapy in steroid refractory graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2019. **54**(11): p. 1805-1814.
108. Khoury, H., et al., *Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease with anti-thymocyte globulin*. Bone Marrow Transplant, 2001. **27**(10): p. 1059-64.
109. Remberger, M., et al., *Treatment of severe acute graft-versus-host disease with anti-thymocyte globulin*. Clin Transplant, 2001. **15**(3): p. 147-53.
110. Arai, S., et al., *Poor outcome in steroid-refractory graft-versus-host disease with antithymocyte globulin treatment*. Biol Blood Marrow Transplant, 2002. **8**(3): p. 155-60.
111. Hebart, H., et al., *Treatment of steroid-resistant graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation with anti-CD3/TCR monoclonal antibodies*. Bone Marrow Transplant, 1995. **15**(6): p. 891-4.
112. Przepiorka, D., et al., *A phase II study of BTI-322, a monoclonal anti-CD2 antibody, for treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease*. Blood, 1998. **92**(11): p. 4066-71.
113. Deeg, H.J., et al., *Treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease with anti-CD147 monoclonal antibody ABX-CBL*. Blood, 2001. **98**(7): p. 2052-8.
114. Carpenter, P.A., et al., *A humanized non-FcR-binding anti-CD3 antibody, visilizumab, for treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. Blood, 2002. **99**(8): p. 2712-9.
115. Carpenter, P.A., et al., *A phase II multicenter study of visilizumab, humanized anti-CD3 antibody, to treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. Biol Blood Marrow Transplant, 2005. **11**(6): p. 465-71.
116. Schmidt-Hieber, M., et al., *Efficacy of the interleukin-2 receptor antagonist basiliximab in steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. Br J Haematol, 2005. **130**(4): p. 568-74.
117. Pinana, J.L., et al., *Encouraging results with inolimomab (anti-IL-2 receptor) as treatment for refractory acute graft-versus-host disease*. Biol Blood Marrow Transplant, 2006. **12**(11): p. 1135-41.
118. Miano, M., et al., *Daclizumab as useful treatment in refractory acute GVHD: a paediatric experience*. Bone Marrow Transplant, 2009. **43**(5): p. 423-7.
119. Wandroo, F., et al., *Successful use of Campath-1H in the treatment of steroid refractory liver GvHD*. Bone Marrow Transplant, 2004. **34**(3): p. 285-7.

120. Gramatzki, M., et al., *Therapy Of Steroid-Refractory Acute GvHD With CD52 Antibody Alemtuzumab Is Effective And Safe*. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2009. **15**(2): p. 128.
121. Schub, N., et al., *Therapy of steroid-refractory acute GVHD with CD52 antibody alemtuzumab is effective*. *Bone Marrow Transplant*, 2011. **46**(1): p. 143-7.
122. Meunier, M., et al., *Alemtuzumab for Severe Steroid-Refractory Gastrointestinal Acute Graft-versus-Host Disease*. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014. **20**(9): p. 1451-1454.
123. Couriel, D., et al., *Tumor necrosis factor-alpha blockade for the treatment of acute GVHD*. *Blood*, 2004. **104**(3): p. 649-54.
124. Patriarca, F., et al., *Infliximab treatment for steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. *Haematologica*, 2004. **89**(11): p. 1352-9.
125. Park, J.S., S.H. Jeong, and M.S. Ahn, *Etanercept for Steroid-Refractory Acute Graft-Versus-Host Disease Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2011. **17**(2): p. S347.
126. De Jong, C.N., et al., *Etanercept for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: A single center experience*. *PLoS One*, 2017. **12**(10): p. e0187184.
127. Nygaard, M., et al., *Evaluation of infliximab as second-line treatment of acute graft versus host disease -validating response on day 7 and 28 as predictors of survival*. *Bone Marrow Transplant*, 2018. **53**(7): p. 844-851.
128. Kim, J.G., et al., *Different efficacy of mycophenolate mofetil as salvage treatment for acute and chronic GVHD after allogeneic stem cell transplant*. *Eur J Haematol*, 2004. **73**(1): p. 56-61.
129. Krejci, M., et al., *Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic steroid-refractory graft-versus-host disease*. *Ann Hematol*, 2005. **84**(10): p. 681-5.
130. Takami, A., et al., *Mycophenolate mofetil is effective and well tolerated in the treatment of refractory acute and chronic graft-versus-host disease*. *Int J Hematol*, 2006. **83**(1): p. 80-5.
131. Furlong, T., et al., *Therapy with mycophenolate mofetil for refractory acute and chronic GVHD*. *Bone Marrow Transplant*, 2009. **44**(11): p. 739-48.
132. Xhaard, A., et al., *Steroid-refractory acute GVHD: lack of long-term improved survival using new generation anticytokine treatment*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012. **18**(3): p. 406-13.
133. Benito, A.I., et al., *Sirolimus (rapamycin) for the treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. *Transplantation*, 2001. **72**(12): p. 1924-9.
134. Hoda, D., et al., *Sirolimus for treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. *Bone Marrow Transplant*, 2010. **45**(8): p. 1347-51.
135. Bolaños-Meade, J., et al., *Pentostatin in steroid-refractory acute graft-versus-host disease*. *J Clin Oncol*, 2005. **23**(12): p. 2661-8.
136. Peritt, D., *Potential mechanisms of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006. **12**(1 Suppl 2): p. 7-12.
137. Greinix, H.T., et al., *Extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a pilot study*. *Blood*, 2000. **96**(7): p. 2426-31.
138. Greinix, H.T., et al., *The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease*. *Haematologica*, 2006. **91**(3): p. 405-8.
139. Perfetti, P., et al., *Extracorporeal photopheresis for the treatment of steroid refractory acute GVHD*. *Bone Marrow Transplant*, 2008. **42**(9): p. 609-17.
140. Foss, F.M., et al., *Prospective study of extracorporeal photopheresis in steroid-refractory or steroid-resistant extensive chronic graft-versus-host disease: analysis of response and survival incorporating prognostic factors*. *Bone Marrow Transplant*, 2005. **35**(12): p. 1187-93.

141. Flowers, M.E., et al., *A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease*. *Blood*, 2008. **112**(7): p. 2667-74.
142. Spoerl, S., et al., *Activity of therapeutic JAK 1/2 blockade in graft-versus-host disease*. *Blood*, 2014. **123**(24): p. 3832-42.
143. Zeiser, R., et al., *Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey*. *Leukemia*, 2015. **29**(10): p. 2062-8.
144. Jagasia, M., et al., *Ruxolitinib in Combination with Corticosteroids for the Treatment of Steroid-Refractory Acute Graft-Vs-Host Disease: Results from the Phase 2 REACH1 Trial*. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2019. **25**(3): p. S52.
145. Jagasia, M., et al., *Ruxolitinib for the treatment of steroid-refractory acute GVHD (REACH1): a multicenter, open-label phase 2 trial*. *Blood*, 2020. **135**(20): p. 1739-1749.
146. Akpek, G., et al., *Development of a prognostic model for grading chronic graft-versus-host disease*. *Blood*, 2001. **97**(5): p. 1219-26.
147. Lee, S.J., et al., *Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse*. *Blood*, 2002. **100**(2): p. 406-14.
148. Pavletic, S.Z., et al., *Prognostic factors of chronic graft-versus-host disease after allogeneic blood stem-cell transplantation*. *Am J Hematol*, 2005. **78**(4): p. 265-74.
149. Palmer, J., et al., *Predictors of survival, nonrelapse mortality, and failure-free survival in patients treated for chronic graft-versus-host disease*. *Blood*, 2016. **127**(1): p. 160-6.
150. Arai, S., et al., *Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015. **21**(2): p. 266-74.
151. Vogelsang, G.B., *How I treat chronic graft-versus-host disease*. *Blood*, 2001. **97**(5): p. 1196-201.
152. Arora, M., et al., *Chronic GVHD risk score: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research analysis*. *Blood*, 2011. **117**(24): p. 6714-20.
153. Baird, K., K. Cooke, and K.R. Schultz, *Chronic graft-versus-host disease (GVHD) in children*. *Pediatr Clin North Am*, 2010. **57**(1): p. 297-322.
154. Lee, S.J., *New approaches for preventing and treating chronic graft-versus-host disease*. *Blood*, 2005. **105**(11): p. 4200-6.
155. Grube, M., et al., *Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation-Results from a Single-Center Observational Study*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016. **22**(10): p. 1781-1791.
156. Zaucha, J.M., et al., *CD34 cell dose in granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cell grafts affects engraftment kinetics and development of extensive chronic graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplantation*. *Blood*, 2001. **98**(12): p. 3221-7.
157. Flowers, M.E., et al., *Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: long-term follow-up of a randomized trial*. *Blood*, 2002. **100**(2): p. 415-9.
158. Perez-Simon, J.A., et al., *Impact of CD34+ cell dose on the outcome of patients undergoing reduced-intensity-conditioning allogeneic peripheral blood stem cell transplantation*. *Blood*, 2003. **102**(3): p. 1108-13.
159. Remberger, M., et al., *Increased risk of extensive chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using unrelated donors*. *Blood*, 2005. **105**(2): p. 548-51.
160. Anasetti, C., et al., *Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors*. *N Engl J Med*, 2012. **367**(16): p. 1487-96.

161. Miklos, D.B., et al., *Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission*. Blood, 2005. **105**(7): p. 2973-8.
162. Perez-Simon, J.A., et al., *Nonmyeloablative transplantation with or without alemtuzumab: comparison between 2 prospective studies in patients with lymphoproliferative disorders*. Blood, 2002. **100**(9): p. 3121-7.
163. Finke, J., et al., *Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2009. **10**(9): p. 855-64.
164. Perez-Simon, J.A., et al., *Chronic but not acute graft-versus-host disease improves outcome in multiple myeloma patients after non-myeloablative allogeneic transplantation*. Br J Haematol, 2003. **121**(1): p. 104-8.
165. Caballero, D., et al., *Allogeneic transplant with reduced intensity conditioning regimens may overcome the poor prognosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia with unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene and chromosomal abnormalities (11q- and 17p-)*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(21): p. 7757-63.
166. Valcarcel, D., et al., *Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival*. J Clin Oncol, 2008. **26**(4): p. 577-84.
167. Koc, S., et al., *Therapy for chronic graft-versus-host disease: a randomized trial comparing cyclosporine plus prednisone versus prednisone alone*. Blood, 2002. **100**(1): p. 48-51.
168. Wolff, D., et al., *The treatment of chronic graft-versus-host disease: consensus recommendations of experts from Germany, Austria, and Switzerland*. Dtsch Arztebl Int, 2011. **108**(43): p. 732-40.
169. Inamoto, Y. and M.E. Flowers, *Failure-free survival after initial systemic treatment of chronic graft-versus-host disease*. 2014. **124**(8): p. 1363-71.
170. Martin, P.J., et al., *An endpoint associated with clinical benefit after initial treatment of chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2017. **130**(3): p. 360-367.
171. Flowers, M.E. and P.J. Martin, *How we treat chronic graft-versus-host disease*. 2015. **125**(4): p. 606-15.
172. Sarantopoulos, S., A.R. Cardones, and K.M. Sullivan, *How I treat refractory chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2019. **133**(11): p. 1191-1200.
173. Couriel, D.R., et al., *Sirolimus in combination with tacrolimus and corticosteroids for the treatment of resistant chronic graft-versus-host disease*. Br J Haematol, 2005. **130**(3): p. 409-17.
174. Jurado, M., et al., *Sirolimus as part of immunosuppressive therapy for refractory chronic graft-versus-host disease*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(6): p. 701-6.
175. Lopez, F., et al., *Efficacy of mycophenolate mofetil in the treatment of chronic graft-versus-host disease*. Biol Blood Marrow Transplant, 2005. **11**(4): p. 307-13.
176. Martin, P.J., et al., *Evaluation of mycophenolate mofetil for initial treatment of chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2009. **113**(21): p. 5074-82.
177. Cutler, C., et al., *Rituximab for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease*. Blood, 2006. **108**(2): p. 756-62.
178. Zaja, F., et al., *Treatment of refractory chronic GVHD with rituximab: a GITMO study*. Bone Marrow Transplant, 2007. **40**(3): p. 273-7.
179. Kim, S.J., et al., *Weekly rituximab followed by monthly rituximab treatment for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: results from a prospective, multicenter, phase II study*. Haematologica, 2010. **95**(11): p. 1935-42.
180. Couriel, D.R., et al., *Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of steroid-resistant chronic GVHD*. Blood, 2006. **107**(8): p. 3074-80.

181. Del Fante, C., et al., *Response and survival of patients with chronic graft-versus-host disease treated by extracorporeal photochemotherapy: a retrospective study according to classical and National Institutes of Health classifications*. *Transfusion*, 2012. **52**(9): p. 2007-15.
182. Dignan, F.L., et al., *Efficacy of bimonthly extracorporeal photopheresis in refractory chronic mucocutaneous GVHD*. *Bone Marrow Transplant*, 2012. **47**(6): p. 824-30.
183. Olivieri, A., et al., *Imatinib for refractory chronic graft-versus-host disease with fibrotic features*. *Blood*, 2009. **114**(3): p. 709-18.
184. Baird, K., et al., *Imatinib mesylate for the treatment of steroid-refractory sclerotic-type cutaneous chronic graft-versus-host disease*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015. **21**(6): p. 1083-90.
185. Magro, L., et al., *Imatinib mesylate as salvage therapy for refractory sclerotic chronic graft-versus-host disease*. *Blood*, 2009. **114**(3): p. 719-722.
186. Jaglowski, S.M. and B.R. Blazar, *How ibrutinib, a B-cell malignancy drug, became an FDA-approved second-line therapy for steroid-resistant chronic GVHD*. 2018. **2**(15): p. 2012-2019.
187. Miklos, D., et al., *Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy*. *Blood*, 2017. **130**(21): p. 2243-2250.
188. Waller, E.K., et al., *Ibrutinib for Chronic Graft-versus-Host Disease After Failure of Prior Therapy: 1-Year Update of a Phase 1b/2 Study*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019. **25**(10): p. 2002-2007.
189. Khoury, H.J., et al., *Ruxolitinib: a steroid sparing agent in chronic graft-versus-host disease*. *Bone Marrow Transplant*, 2018. **53**(7): p. 826-831.
190. Couriel, D., et al., *Ancillary therapy and supportive care of chronic graft-versus-host disease: national institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic Graft-versus-host disease: V. Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006. **12**(4): p. 375-96.
191. Wolff, D., et al., *Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment of chronic GVHD*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010. **16**(12): p. 1611-28.
192. Olsson, R., et al., *Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT*. *Bone Marrow Transplant*, 2013. **48**(4): p. 537-43.
193. Ferrà, C., et al., *Outcome of graft failure after allogeneic stem cell transplant: study of 89 patients*. *Leuk Lymphoma*, 2015. **56**(3): p. 656-62.
194. Olsson, R.F., et al., *Primary graft failure after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies*. *Leukemia*, 2015. **29**(8): p. 1754-62.
195. Ciurea, S.O., et al., *High risk of graft failure in patients with anti-HLA antibodies undergoing haploidentical stem-cell transplantation*. *Transplantation*, 2009. **88**(8): p. 1019-24.
196. Spellman, S., et al., *The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure*. *Blood*, 2010. **115**(13): p. 2704-8.
197. Morin-Zorman, S., et al., *Donor-Specific Anti-HLA Antibodies in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. *Front Immunol*, 2016. **7**: p. 307.
198. Ciurea, S.O., et al., *The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donor-specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation*. *Bone Marrow Transplant*, 2018. **53**(5): p. 521-534.
199. Passweg, J.R., et al., *Donor characteristics affecting graft failure, graft-versus-host disease, and survival after unrelated donor transplantation with reduced-intensity conditioning for hematologic malignancies*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011. **17**(12): p. 1869-73.

200. Olsson, R.F., et al., *Primary graft failure after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies*. *Leukemia*, 2015. **29**(8): p. 1754-62.
201. Barker, J.N., A. Scaradavou, and C.E. Stevens, *Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies*. *Blood*, 2010. **115**(9): p. 1843-9.
202. Khouri, I.F., et al., *Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies*. *J Clin Oncol*, 1998. **16**(8): p. 2817-24.
203. Slavin, S., et al., *Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases*. *Blood*, 1998. **91**(3): p. 756-63.
204. Le Blanc, K., et al., *A comparison of nonmyeloablative and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation*. *Transplantation*, 2004. **78**(7): p. 1014-20.
205. Storb, R., et al., *Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia*. *Blood*, 1994. **84**(3): p. 941-9.
206. Luznik, L., P.V. O'Donnell, and E.J. Fuchs, *Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical bone marrow transplantation*. *Semin Oncol*, 2012. **39**(6): p. 683-93.
207. Remberger, M., et al., *Major ABO blood group mismatch increases the risk for graft failure after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. **13**(6): p. 675-82.
208. Smith, T.J., et al., *2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(19): p. 3187-205.
209. Calmettes, C., et al., *Romiplostim (AMG531, Nplate) for secondary failure of platelet recovery after allo-SCT*. *Bone Marrow Transplant*, 2011. **46**(12): p. 1587-9.
210. Tanaka, T., et al., *Eltrombopag for Treatment of Thrombocytopenia after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016. **22**(5): p. 919-24.
211. Bento, L., et al., *Thrombopoietin Receptor Agonists for Severe Thrombocytopenia after Allogeneic Stem Cell Transplantation: Experience of the Spanish Group of Hematopoietic Stem Cell Transplant*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019. **25**(9): p. 1825-1831.
212. Baron, F. and Y. Beguin, *Adoptive immunotherapy with donor lymphocyte infusions after allogeneic HPC transplantation*. *Transfusion*, 2000. **40**(4): p. 468-76.
213. Mohamedbhai, S.G., et al., *Predominant or complete recipient T-cell chimerism following alemtuzumab-based allogeneic transplantation is reversed by donor lymphocytes and not associated with graft failure*. *Br J Haematol*, 2012. **156**(4): p. 516-22.
214. Frugnoli, I., et al., *Escalating doses of donor lymphocytes for incipient graft rejection following SCT for thalassemia*. *Bone Marrow Transplant*, 2010. **45**(6): p. 1047-51.
215. Larocca, A., et al., *Boost of CD34+-selected peripheral blood cells without further conditioning in patients with poor graft function following allogeneic stem cell transplantation*. *Haematologica*, 2006. **91**(7): p. 935-40.
216. Stasia, A., et al., *CD34 selected cells for the treatment of poor graft function after allogeneic stem cell transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014. **20**(9): p. 1440-3.
217. Remberger, M., et al., *Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a treatment for graft failure*. *Clin Transplant*, 2011. **25**(1): p. E68-76.
218. Fuji, S., et al., *Peripheral blood as a preferable source of stem cells for salvage transplantation in patients with graft failure after cord blood transplantation: a*

- retrospective analysis of the registry data of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation.* Biol Blood Marrow Transplant, 2012. **18**(9): p. 1407-14.
219. Ferrá, C., et al., *Outcome of graft failure after allogeneic stem cell transplant: study of 89 patients.* Leuk Lymphoma, 2015. **56**(3): p. 656-62.
220. Marleau, A.M. and N. Sarvetnick, *T cell homeostasis in tolerance and immunity.* J Leukoc Biol, 2005. **78**(3): p. 575-84.
221. Hoffmann, P. and M. Edinger, *CD4+CD25+ regulatory T cells and graft-versus-host disease.* Semin Hematol, 2006. **43**(1): p. 62-9.
222. Shono, Y., et al., *Bone marrow graft-versus-host disease: early destruction of hematopoietic niche after MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplantation.* Blood, 2010. **115**(26): p. 5401-11.
223. Tsirigotis, P.D., et al., *Post-hematopoietic stem cell transplantation immune-mediated cytopenias.* Immunotherapy, 2009. **1**(1): p. 39-47.
224. O'Brien, T.A., et al., *Autoimmune haemolytic anaemia complicating haematopoietic cell transplantation in paediatric patients: high incidence and significant mortality in unrelated donor transplants for non-malignant diseases.* Br J Haematol, 2004. **127**(1): p. 67-75.
225. Page, K.M., et al., *Posttransplant autoimmune hemolytic anemia and other autoimmune cytopenias are increased in very young infants undergoing unrelated donor umbilical cord blood transplantation.* Biol Blood Marrow Transplant, 2008. **14**(10): p. 1108-1117.
226. Sanz, J., et al., *Autoimmune cytopenias after umbilical cord blood transplantation in adults with hematological malignancies: a single-center experience.* Bone Marrow Transplant, 2014. **49**(8): p. 1084-8.
227. Gonzalez-Vicent, M., et al., *Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): A retrospective analysis and a proposal of treatment on behalf of the Grupo Espanol De Trasplante de Medula Osea en Ninos (GETMON) and the Grupo Espanol de Trasplante Hematopoyetico (GETH).* Transfus Med Rev, 2018.
228. Sevilla, J., et al., *Acute autoimmune hemolytic anemia following unrelated cord blood transplantation as an early manifestation of chronic graft-versus-host disease.* Bone Marrow Transplant, 2001. **28**(1): p. 89-92.
229. Sanz, J., et al., *Autoimmune hemolytic anemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients.* Bone Marrow Transplant, 2007. **39**(9): p. 555-61.
230. Szanto, C.L., et al., *Predictors for Autoimmune Cytopenias after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Children.* Biol Blood Marrow Transplant, 2020. **26**(1): p. 114-122.
231. Hartert, A., et al., *Successful treatment of thrombocytopenia and hemolytic anemia with IVIG in a patient with lupus-like syndrome after mismatched related PBSCT.* Bone Marrow Transplant, 2001. **27**(3): p. 337-40.
232. Raj, K., et al., *Rituximab is effective in the management of refractory autoimmune cytopenias occurring after allogeneic stem cell transplantation.* Bone Marrow Transplant, 2005. **35**(3): p. 299-301.
233. Ratanatharathorn, V., S. Pavletic, and J.P. Uberti, *Clinical applications of rituximab in allogeneic stem cell transplantation: anti-tumor and immunomodulatory effects.* Cancer Treat Rev, 2009. **35**(8): p. 653-61.
234. Olnes, M.J., et al., *Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia.* N Engl J Med, 2012. **367**(1): p. 11-9.
235. Vasudevan Nampoothiri, R. and R. Kumar, *Eltrombopag: Role in Cytopenias Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation.* 2020. **36**(2): p. 238-245.
236. Jaspers, A., et al., *Erythropoietin therapy after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a prospective, randomized trial.* Blood, 2014. **124**(1): p. 33-41.

237. Silva Lde, P., et al., *Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplants is the complex result of BK virus infection, preparative regimen intensity and donor type*. *Haematologica*, 2010. **95**(7): p. 1183-90.
238. Bridges, B., S. Donegan, and A. Badros, *Cidofovir bladder instillation for the treatment of BK hemorrhagic cystitis after allogeneic stem cell transplantation*. *Am J Hematol*, 2006. **81**(7): p. 535-7.
239. Ganguly, N., et al., *Low-dose cidofovir in the treatment of symptomatic BK virus infection in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis of an algorithmic approach*. *Transpl Infect Dis*, 2010. **12**(5): p. 406-11.
240. Cesaro, S., et al., *ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients*. *J Antimicrob Chemother*, 2018. **73**(1): p. 12-21.
241. Friedenstein, A.J., S. Piatetzky, II, and K.V. Petrakova, *Osteogenesis in transplants of bone marrow cells*. *J Embryol Exp Morphol*, 1966. **16**(3): p. 381-90.
242. Friedenstein, A.J., et al., *Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues*. *Transplantation*, 1968. **6**(2): p. 230-47.
243. Friedenstein, A.J., R.K. Chailakhjan, and K.S. Lalykina, *The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells*. *Cell Tissue Kinet*, 1970. **3**(4): p. 393-403.
244. Horwitz, E.M., et al., *Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement*. *Cytotherapy*, 2005. **7**(5): p. 393-5.
245. Viswanathan, S., et al., *Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature*. *Cytotherapy*, 2019. **21**(10): p. 1019-1024.
246. Dominici, M., et al., *Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement*. *Cytotherapy*, 2006. **8**(4): p. 315-7.
247. Ryan, J.M., et al., *Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection*. *J Inflamm (Lond)*, 2005. **2**: p. 8.
248. Pittenger, M.F., et al., *Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells*. *Science*, 1999. **284**(5411): p. 143-7.
249. Galipeau, J. and L. Sensébé, *Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities*. *Cell Stem Cell*, 2018. **22**(6): p. 824-833.
250. Fu, Y., et al., *Trophic Effects of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration*. *Tissue Eng Part B Rev*, 2017. **23**(6): p. 515-528.
251. Krampera, M., et al., *Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide*. *Blood*, 2003. **101**(9): p. 3722-9.
252. Augello, A., et al., *Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway*. *Eur J Immunol*, 2005. **35**(5): p. 1482-90.
253. Gonzalez, M.A., et al., *Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells*. *Arthritis Rheum*, 2009. **60**(4): p. 1006-19.
254. Croitoru-Lamoury, J., et al., *Human mesenchymal stem cells constitutively express chemokines and chemokine receptors that can be upregulated by cytokines, IFN-beta, and Copaxone*. *J Interferon Cytokine Res*, 2007. **27**(1): p. 53-64.
255. Di Nicola, M., et al., *Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli*. *Blood*, 2002. **99**(10): p. 3838-43.
256. Glennie, S., et al., *Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells*. *Blood*, 2005. **105**(7): p. 2821-7.

257. Le Blanc, K., et al., *Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex*. Scand J Immunol, 2003. **57**(1): p. 11-20.
258. Aggarwal, S. and M.F. Pittenger, *Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses*. Blood, 2005. **105**(4): p. 1815-22.
259. Ghannam, S., et al., *Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype*. J Immunol, 2010. **185**(1): p. 302-12.
260. Selmani, Z., et al., *Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells*. Stem Cells, 2008. **26**(1): p. 212-22.
261. Spaggiari, G.M. and L. Moretta, *Interactions between mesenchymal stem cells and dendritic cells*. Adv Biochem Eng Biotechnol, 2013. **130**: p. 199-208.
262. Corcione, A., et al., *Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions*. Blood, 2006. **107**(1): p. 367-72.
263. Peng, Y., et al., *Mesenchymal stromal cells infusions improve refractory chronic graft versus host disease through an increase of CD5+ regulatory B cells producing interleukin 10*. Leukemia, 2015. **29**(3): p. 636-46.
264. Peng, Y., et al., *Alteration of naive and memory B-cell subset in chronic graft-versus-host disease patients after treatment with mesenchymal stromal cells*. Stem Cells Transl Med, 2014. **3**(9): p. 1023-31.
265. Raffaghello, L., et al., *Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche*. Stem Cells, 2008. **26**(1): p. 151-62.
266. Spaggiari, G.M., et al., *Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2*. Blood, 2008. **111**(3): p. 1327-33.
267. Cagliani, J., et al., *Immunomodulation by Mesenchymal Stromal Cells and Their Clinical Applications*. J Stem Cell Regen Biol, 2017. **3**(2).
268. Almeida-Porada, G., et al., *Cotransplantation of human stromal cell progenitors into preimmune fetal sheep results in early appearance of human donor cells in circulation and boosts cell levels in bone marrow at later time points after transplantation*. Blood, 2000. **95**(11): p. 3620-7.
269. Noort, W.A., et al., *Mesenchymal stem cells promote engraftment of human umbilical cord blood-derived CD34(+) cells in NOD/SCID mice*. Exp Hematol, 2002. **30**(8): p. 870-8.
270. Maitra, B., et al., *Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation*. Bone Marrow Transplant, 2004. **33**(6): p. 597-604.
271. Yanez, R., et al., *Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease*. Stem Cells, 2006. **24**(11): p. 2582-91.
272. Allers, C., et al., *Dynamic of distribution of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells after transplantation into adult unconditioned mice*. Transplantation, 2004. **78**(4): p. 503-8.
273. Lazarus, H.M., et al., *Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use*. Bone Marrow Transplant, 1995. **16**(4): p. 557-64.
274. Koc, O.N., et al., *Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy*. J Clin Oncol, 2000. **18**(2): p. 307-16.
275. Lazarus, H.M., et al., *Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients*. Biol Blood Marrow Transplant, 2005. **11**(5): p. 389-98.

276. Frassoni, F., et al., *Expanded mesenchymal stem cells (MSC), co-infused with HLA identical hemopoietic stem cell transplants, reduce acute and chronic graft versus host disease: A matched pair analysis*. Bone Marrow Transplantation, 2002. **29**: p. S2-S2.
277. Le Blanc, K., et al., *Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells*. Lancet, 2004. **363**(9419): p. 1439-41.
278. Le Blanc, K., et al., *Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study*. Lancet, 2008. **371**(9624): p. 1579-86.
279. Perez-Simon, J.A., et al., *Mesenchymal stem cells expanded in vitro with human serum for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease: results of a phase I/II clinical trial*. Haematologica, 2011. **96**(7): p. 1072-6.
280. Sanchez-Guijo, F., et al., *Sequential third-party mesenchymal stromal cell therapy for refractory acute graft-versus-host disease*. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **20**(10): p. 1580-5.
281. Fernández-Maqueda, C., et al., *Mesenchymal stromal cells for steroid-refractory acute GvHD*. Bone Marrow Transplant, 2017. **52**(11): p. 1577-1579.
282. Ball, L.M., et al., *Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease*. Br J Haematol, 2013. **163**(4): p. 501-9.
283. Baron, F., et al., *Cotransplantation of mesenchymal stem cells might prevent death from graft-versus-host disease (GVHD) without abrogating graft-versus-tumor effects after HLA-mismatched allogeneic transplantation following nonmyeloablative conditioning*. Biol Blood Marrow Transplant, 2010. **16**(6): p. 838-47.
284. Bernardo, M.E., et al., *Co-infusion of ex vivo-expanded, parental MSCs prevents life-threatening acute GVHD, but does not reduce the risk of graft failure in pediatric patients undergoing allogeneic umbilical cord blood transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2011. **46**(2): p. 200-7.
285. Liu, K., et al., *Coinfusion of mesenchymal stromal cells facilitates platelet recovery without increasing leukemia recurrence in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: a randomized, controlled clinical study*. Stem Cells Dev, 2011. **20**(10): p. 1679-85.
286. Kuzmina, L.A., et al., *Multipotent Mesenchymal Stromal Cells for the Prophylaxis of Acute Graft-versus-Host Disease-A Phase II Study*. Stem Cells Int, 2012. **2012**: p. 968213.
287. Shipounova, I.N., et al., *Analysis of results of acute graft-versus-host disease prophylaxis with donor multipotent mesenchymal stromal cells in patients with hemoblastoses after allogeneic bone marrow transplantation*. Biochemistry (Mosc), 2014. **79**(12): p. 1363-70.
288. von Bonin, M., et al., *Treatment of refractory acute GVHD with third-party MSC expanded in platelet lysate-containing medium*. Bone Marrow Transplant, 2009. **43**(3): p. 245-51.
289. Lucchini, G., et al., *Platelet-lysate-expanded mesenchymal stromal cells as a salvage therapy for severe resistant graft-versus-host disease in a pediatric population*. Biol Blood Marrow Transplant, 2010. **16**(9): p. 1293-301.
290. Prasad, V.K., et al., *Efficacy and safety of ex vivo cultured adult human mesenchymal stem cells (Prochymal) in pediatric patients with severe refractory acute graft-versus-host disease in a compassionate use study*. Biol Blood Marrow Transplant, 2011. **17**(4): p. 534-41.
291. Herrmann, R., et al., *Mesenchymal stromal cell therapy for steroid-refractory acute and chronic graft versus host disease: a phase 1 study*. Int J Hematol, 2012. **95**(2): p. 182-8.
292. Introna, M., et al., *Treatment of graft versus host disease with mesenchymal stromal cells: a phase I study on 40 adult and pediatric patients*. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **20**(3): p. 375-81.
293. Kurtzberg, J., et al., *Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (remestemcel-L, Prochymal) as a rescue agent for severe refractory acute graft-versus-host disease in pediatric patients*. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **20**(2): p. 229-35.

294. von Dalowski, F., et al., *Mesenchymal Stromal Cells for Treatment of Acute Steroid-Refractory Graft Versus Host Disease: Clinical Responses and Long-Term Outcome*. *Stem Cells*, 2016. **34**(2): p. 357-66.
295. Dotoli, G.M., et al., *Mesenchymal stromal cell infusion to treat steroid-refractory acute GvHD III/IV after hematopoietic stem cell transplantation*. *Bone Marrow Transplant*, 2017. **52**(6): p. 859-862.
296. Bader, P., et al., *Effective treatment of steroid and therapy-refractory acute graft-versus-host disease with a novel mesenchymal stromal cell product (MSC-FFM)*. 2018. **53**(7): p. 852-862.
297. Ringden, O., et al., *Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease*. *Transplantation*, 2006. **81**(10): p. 1390-7.
298. Zhou, H., et al., *Efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of sclerodermatous chronic graft-versus-host disease: clinical report*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010. **16**(3): p. 403-12.
299. Weng, J.Y., et al., *Mesenchymal stem cell as salvage treatment for refractory chronic GVHD*. *Bone Marrow Transplant*, 2010. **45**(12): p. 1732-40.
300. Jurado, M., et al., *Adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells as part of therapy for chronic graft-versus-host disease: A phase I/II study*. *Cytotherapy*, 2017. **19**(8): p. 927-936.
301. Gao, L., et al., *Phase II Multicenter, Randomized, Double-Blind Controlled Study of Efficacy and Safety of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells in the Prophylaxis of Chronic Graft-Versus-Host Disease After HLA-Haploidentical Stem-Cell Transplantation*. *J Clin Oncol*, 2016. **34**(24): p. 2843-50.
302. Ball, L.M., et al., *Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation*. *Blood*, 2007. **110**(7): p. 2764-7.
303. Macmillan, M.L., et al., *Transplantation of ex-vivo culture-expanded parental haploidentical mesenchymal stem cells to promote engraftment in pediatric recipients of unrelated donor umbilical cord blood: results of a phase I-II clinical trial*. *Bone Marrow Transplant*, 2009. **43**(6): p. 447-54.
304. Gonzalo-Daganzo, R., et al., *Results of a pilot study on the use of third-party donor mesenchymal stromal cells in cord blood transplantation in adults*. *Cytotherapy*, 2009. **11**(3): p. 278-88.
305. Meuleman, N., et al., *Infusion of mesenchymal stromal cells can aid hematopoietic recovery following allogeneic hematopoietic stem cell myeloablative transplant: a pilot study*. *Stem Cells Dev*, 2009. **18**(9): p. 1247-52.
306. Xiong, Y.Y., et al., *Mesenchymal stem cells versus mesenchymal stem cells combined with cord blood for engraftment failure after autologous hematopoietic stem cell transplantation: a pilot prospective, open-label, randomized trial*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014. **20**(2): p. 236-42.
307. Sanchez-Guijo, F.M., et al., *Allogeneic mesenchymal stem cell therapy for refractory cytopenias after hematopoietic stem cell transplantation*. *Transfusion*, 2012. **52**(5): p. 1086-91.
308. Ringden, O., et al., *Tissue repair using allogeneic mesenchymal stem cells for hemorrhagic cystitis, pneumomediastinum and perforated colon*. *Leukemia*, 2007. **21**(11): p. 2271-6.
309. Wang, Y., et al., *Mesenchymal stromal cells as an adjuvant treatment for severe late-onset hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. *Acta Haematol*, 2015. **133**(1): p. 72-7.
310. Sensebé, L., M. Gadelorge, and S. Fleury-Cappellesso, *Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review*. *Stem Cell Res Ther*, 2013. **4**(3): p. 66.
311. Lee, O.K., et al., *Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood*. *Blood*, 2004. **103**(5): p. 1669-75.

312. Campagnoli, C., et al., *Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow*. Blood, 2001. **98**(8): p. 2396-402.
313. In 't Anker, P.S., et al., *Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta*. Stem Cells, 2004. **22**(7): p. 1338-45.
314. Yen, B.L., et al., *Isolation of multipotent cells from human term placenta*. Stem Cells, 2005. **23**(1): p. 3-9.
315. Halvorsen, Y.C., W.O. Wilkison, and J.M. Gimble, *Adipose-derived stromal cells--their utility and potential in bone formation*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2000. **24 Suppl 4**: p. S41-4.
316. Zuk, P.A., et al., *Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies*. Tissue Eng, 2001. **7**(2): p. 211-28.
317. Wagner, W., et al., *Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood*. Exp Hematol, 2005. **33**(11): p. 1402-16.
318. Mushtaq, M., et al., *Rationale and design of the Percutaneous Stem Cell Injection Delivery Effects on Neomyogenesis in Dilated Cardiomyopathy (the POSEIDON-DCM study): a phase I/II, randomized pilot study of the comparative safety and efficacy of transendocardial injection of autologous mesenchymal stem cell vs. allogeneic mesenchymal stem cells in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy*. J Cardiovasc Transl Res, 2014. **7**(9): p. 769-80.
319. Cheng, R.J., et al., *Mesenchymal Stem Cells: Allogeneic MSC May Be Immunosuppressive but Autologous MSC Are Dysfunctional in Lupus Patients*. Front Cell Dev Biol, 2019. **7**: p. 285.
320. Colbath, A.C., et al., *Mesenchymal stem cells for treatment of musculoskeletal disease in horses: Relative merits of allogeneic versus autologous stem cells*. Equine Vet J, 2020. **52**(5): p. 654-663.
321. Simmons, P.J., et al., *Host origin of marrow stromal cells following allogeneic bone marrow transplantation*. Nature, 1987. **328**(6129): p. 429-32.
322. Tanaka, J., et al., *Evaluation of mixed chimaerism and origin of bone marrow derived fibroblastoid cells after allogeneic bone marrow transplantation*. Br J Haematol, 1994. **86**(2): p. 436-8.
323. Rieger, K., et al., *Mesenchymal stem cells remain of host origin even a long time after allogeneic peripheral blood stem cell or bone marrow transplantation*. Exp Hematol, 2005. **33**(5): p. 605-11.
324. Garderet, L., et al., *Mesenchymal stem cell abnormalities in patients with multiple myeloma*. Leuk Lymphoma, 2007. **48**(10): p. 2032-41.
325. Corre, J., et al., *Bone marrow mesenchymal stem cells are abnormal in multiple myeloma*. Leukemia, 2007. **21**(5): p. 1079-88.
326. Garayoa, M., et al., *Mesenchymal stem cells from multiple myeloma patients display distinct genomic profile as compared with those from normal donors*. Leukemia, 2009. **23**(8): p. 1515-27.
327. Zhao, Z.G., et al., *Phenotypic and functional comparison of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of normal adults and patients with hematologic malignant diseases*. Stem Cells Dev, 2007. **16**(4): p. 637-48.
328. Zhi-Gang, Z., et al., *Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow of patient with hematological malignant diseases*. Leuk Lymphoma, 2008. **49**(11): p. 2187-95.
329. Lopez-Villar, O., et al., *Both expanded and uncultured mesenchymal stem cells from MDS patients are genomically abnormal, showing a specific genetic profile for the 5q-syndrome*. Leukemia, 2009. **23**(4): p. 664-72.

330. Klaus, M., et al., *Reserves, functional, immunoregulatory, and cytogenetic properties of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with myelodysplastic syndromes*. *Stem Cells Dev*, 2010. **19**(7): p. 1043-54.
331. Chao, Y.H., et al., *Poor potential of proliferation and differentiation in bone marrow mesenchymal stem cells derived from children with severe aplastic anemia*. *Ann Hematol*, 2010. **89**(7): p. 715-23.
332. Kemp, K., et al., *Chemotherapy-induced mesenchymal stem cell damage in patients with hematological malignancy*. *Ann Hematol*, 2010. **89**(7): p. 701-13.
333. Kemp, K., et al., *Alkylating chemotherapeutic agents cyclophosphamide and melphalan cause functional injury to human bone marrow-derived mesenchymal stem cells*. *Ann Hematol*, 2011. **90**(7): p. 777-89.
334. Mussano, F., et al., *Differential effect of ionizing radiation exposure on multipotent and differentiation-restricted bone marrow mesenchymal stem cells*. *J Cell Biochem*, 2010. **111**(2): p. 322-32.
335. Wang, Y., et al., *Irradiation alters the differentiation potential of bone marrow mesenchymal stem cells*. *Mol Med Rep*, 2016. **13**(1): p. 213-23.
336. Preciado, S., et al., *Mesenchymal Stromal Cell Irradiation Interferes with the Adipogenic/Osteogenic Differentiation Balance and Improves Their Hematopoietic-Supporting Ability*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018. **24**(3): p. 443-451.
337. Lund, T.C., et al., *Mesenchymal stromal cells from donors varying widely in age are of equal cellular fitness after in vitro expansion under hypoxic conditions*. *Cytotherapy*, 2010. **12**(8): p. 971-81.
338. Bertram, H., H. Mayer, and H. Schliephake, *Effect of donor characteristics, technique of harvesting and in vitro processing on culturing of human marrow stroma cells for tissue engineered growth of bone*. *Clin Oral Implants Res*, 2005. **16**(5): p. 524-31.
339. Siegel, G., et al., *Phenotype, donor age and gender affect function of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells*. *BMC Med*, 2013. **11**: p. 146.
340. Strong, A.L., et al., *Human Adipose Stromal/Stem Cells from Obese Donors Show Reduced Efficacy in Halting Disease Progression in the Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Model of Multiple Sclerosis*. *Stem Cells*, 2016. **34**(3): p. 614-26.
341. Ulum, B., et al., *Bone marrow mesenchymal stem cell donors with a high body mass index display elevated endoplasmic reticulum stress and are functionally impaired*. 2018. **233**(11): p. 8429-8436.
342. Georgi, N., et al., *MicroRNA Levels as Prognostic Markers for the Differentiation Potential of Human Mesenchymal Stromal Cell Donors*. *Stem Cells Dev*, 2015. **24**(16): p. 1946-55.
343. Trivedi, A., et al., *Bone marrow donor selection and characterization of MSCs is critical for pre-clinical and clinical cell dose production*. *J Transl Med*, 2019. **17**(1): p. 128.
344. Riezzo, I., et al., *Donor Selection for Allogeneic Hemopoietic Stem Cell Transplantation: Clinical and Ethical Considerations*. 2017. **2017**: p. 5250790.
345. Rimondo, A., et al., *Bone marrow donor-related variables associated with harvest outcome in HLA-haploidentical transplantation with postinfusion cyclophosphamide*. *Vox Sang*, 2016. **111**(1): p. 93-100.
346. Trento, C., et al., *Manufacturing Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Graft-versus-Host Disease: A Survey among Centers Affiliated with the European Society for Blood and Marrow Transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018. **24**(11): p. 2365-2370.
347. Robb, K.P., et al., *Mesenchymal stromal cell therapy: progress in manufacturing and assessments of potency*. *Cytotherapy*, 2019. **21**(3): p. 289-306.
348. Lalu, M.M., et al., *Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials*. *PLoS One*, 2012. **7**(10): p. e47559.

349. Thompson, M., et al., *Cell therapy with intravascular administration of mesenchymal stromal cells continues to appear safe: An updated systematic review and meta-analysis*. *EClinicalMedicine*, 2020. **19**: p. 100249.

