

GRADO EN MEDICINA



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE
CANTABRIA

TRABAJO FIN DE GRADO

**Estudio comparativo de resultados del trasplante
hematopoyético alogénico con donantes alternativos**

Comparative study of the results from allogenic
haematopoietic transplant with alternative donors

Autor: Dña. Ana Herrería Palazuelos

Director/es: Dña. Arancha Bermúdez Rodríguez

D. Eulogio Conde García

Santander, Junio 2017

ÍNDICE

1 RESUMEN.....	4
2 INTRODUCCIÓN	5
2.1 Historia del trasplante de progenitores hematopoyéticos	5
2.2 HLA (Antígeno leucocitario humano)	7
2.2.1 Descubrimiento del HLA.....	7
2.2.2 Papel del HLA	8
2.2.3 Tipaje del HLA.....	9
2.2.4 Número de disparidades HLA.....	10
2.2.4.1 Disparidades permitidas	10
2.2.4.2 HLA-DQ y HLA-DP.....	11
2.2.5 Importancia del estadio de la enfermedad.....	11
2.2.6 Incompatibilidad del ligando de los receptores de células NK (KIR).....	12
2.2.7 Nivel de disparidad del HLA	12
2.2.8 GVL y disparidad HLA	13
2.3 Tipos de trasplante	14
2.3.1 Autólogo.....	14
2.3.2 Singénico	14
2.3.3 Alogénico.....	14
2.4 Regímenes de acondicionamiento antes del trasplante	14
2.4.1 Regímenes mieloablativos	15
2.4.2 Regímenes de intensidad reducida y no mieloablativos	15
2.5 Elección del donante. Donantes alternativos.....	15
2.5.1 Trasplante haploidéntico familiar	16
2.5.2 Trasplante de donante con disparidad HLA no relacionado.....	17
2.5.2.1 Alelos y antígenos	17
2.5.2.2 Disparidad en residuos de aminoácidos específicos	17
2.5.2.3 Expresión HLA	17
2.5.3 Trasplante de células procedentes de cordón umbilical	18
3 HIPÓTESIS.....	20
4 OBJETIVOS.....	21
5 MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
5.1 Diseño	22

5.2 Población de estudio	22
5.3 Tamaño muestral estimado.....	22
5.4 Análisis estadístico.....	23
6 RESULTADOS.....	24
6.1 Supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad e incidencia de recaída..	27
6.2 Fallo de implante y EICH	28
6.3 Mortalidad relacionada con el procedimiento y principales causas de mortalidad en ambos grupos	29
7 DISCUSIÓN	31
8 CONCLUSIÓN	33
9 BIBLIOGRAFÍA	34

1 RESUMEN

Resumen: Ante la ausencia de un donante HLA idéntico para realizar un trasplante alogénico, se plantea la necesidad de elegir un donante alternativo. Las opciones que se plantean, un donante familiar haploidéntico o un donante no emparentado con disparidad en el HLA, aún despiertan cierta controversia. El objetivo de este estudio es comparar los resultados de ambos procedimientos en cuanto a supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad, fallo de implante, incidencia de EICH aguda y crónica, causas de mortalidad y mortalidad relacionada con el procedimiento. Para ello, se analizaron 55 pacientes que se sometieron a un trasplante alogénico de donante alternativo en el HUMV entre los años 2012 y 2016. Los resultados en cuanto a supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y recaída fueron similares para ambos procedimientos. Sin embargo, en el trasplante haploidéntico la mortalidad relacionada con el procedimiento fue menor, con tasas de fallo de implante y EICHc grave significativamente más bajas que en el grupo *mismatch*.

Palabras clave: trasplante, supervivencia, EICH, mortalidad.

Abstract: When an allogenic stem cell transplant is required and an identical HLA donor is not available, an alternative donor becomes needed. Options usually considered such as an haploidentical stem cell transplant and a mismatched unrelated donor transplant still generate controversy. The aim of this study is to compare the results from both procedures regarding overall survival, disease free survival, graft failure, incidence of acute and chronic GVHD, mortality causes and procedure-related mortality. To achieve this goal, 55 patients who received an allogenic transplant for an alternative donor were analysed. These transplants were performed in the HUMV (Hospital Universitario Marqués de Valdecilla) between the years 2012 and 2016. Results in overall survival, disease free survival and relapse were similar for both type of transplants. Nevertheless, haploidentical stem cell transplant showed a minor procedure-related mortality. On the other hand, taxes of graft failure and serious GVHD were significantly lower than the ones in the other group.

Key words: transplant, survival, GVHD, mortality.

2 INTRODUCCIÓN

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) partió de la necesidad de tratar ciertas patologías hematológicas que resultaban fatales para los enfermos en pocos años. Inicialmente, se utilizaba fundamentalmente como tratamiento de enfermedades malignas, como diversos tipos de leucemias. Fue posteriormente cuando comenzó a aplicarse también a enfermedades no malignas que ponían igualmente en riesgo la vida del paciente, como por ejemplo la aplasia de médula ósea.

2.1 HISTORIA DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

La historia del trasplante de progenitores hematopoyéticos comenzó a desarrollarse en 1949 con el estudio de *Jacobson et al*¹, donde demostró que el hecho de proteger el bazo a un ratón que iba a recibir radiación lentamente permitía su supervivencia. Dos años después, *Lorenz et al*² establecieron que los ratones que recibían radiación podían ser protegidos de ésta mediante la infusión de células homólogas esplénicas o de la médula ósea. Los experimentos iniciales parecían demostrar que este fenómeno de protección se debía a factores humorales. En 1954, *Barnes & Loutit*³, de acuerdo con sus propios experimentos y los llevados a cabo por otros grupos concluyeron que debía considerarse una posible hipótesis celular. Un año más tarde, *Main & Preh*⁴ observaron que los ratones que recibían una dosis letal de radiación podían ser rescatados mediante la infusión de médula ósea de otro ratón, además de mostrar tolerancia posterior a un injerto de piel del ratón donante. Poco tiempo después, *Ford et al*⁵ (1956) demostraron que las características citogenéticas de la médula ósea de los ratones radiados correspondían a la de los donantes, y, en ese mismo año, *Nowell et al*⁶ demostraron la presencia de células de rata en la médula ósea de ratones irradiados que recibieron una infusión de células de estos animales.

En el año 1957 se realizó el primer trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos⁷. Fue llevado a cabo por E. Donnall Thomas, lo que le llevaría a ganar el premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1990. Lo que hizo Thomas fue someter a pacientes con leucemia a una radiación corporal total o a dosis elevadas de quimioterapia, con el fin de conseguir una mieloablación que posteriormente revertiría con la infusión de MO del donante administrada por vía intravenosa, observando una reconstitución hematopoyética completa precoz. El único trasplante que concluyó con éxito de todos los que llevó a cabo fue entre gemelos idénticos, lo que probaba que los efectos de la exposición a dosis letales de radiación podían ser revertidos con la administración intravenosa de MO.

En 1970, *Bortin*⁸ publicaba una revisión de 200 trasplantes de MO en los que ninguno de ellos había concluido con éxito. El hecho de que se siguieran realizando intentos de trasplante en humanos con estos resultados tan desalentadores fue controvertido, ya que había quien consideraba que no estaban justificados. Estos intentos frustrados fueron debidos en parte a la falta de conocimiento sobre los antígenos de histocompatibilidad y, en parte, a que las dosis de radiación empleadas fueron insuficientes para lograr la inmunosupresión necesaria para que el receptor pudiera tolerar el injerto alogénico.

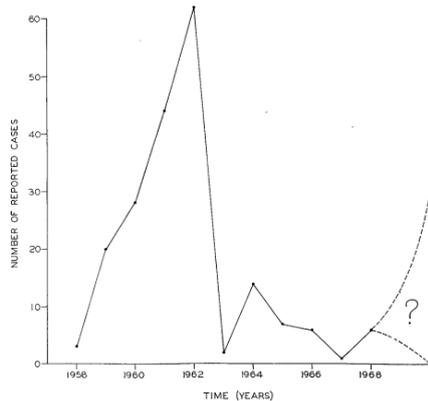


FIGURE 1. Reported human bone marrow transplants from 1958 to 1968.

TABLE 1. Results of 203 reported human bone marrow transplants

Disease	No. of patients	No. with no engraftment	No. with secondary disease	No. of allogeneic chimeras
Aplastic anemia	73	66	5	0
Leukemia	84	33	32	3
Malignant disease	31	23	1	1
Immune deficiency	15	3	11	7
Total	203	125	49	11*

* Three alive at the time of this report.

Figura 1. Bortin, M.M. (1970) *A compendium of reported human bone marrow transplants. Transplantation, 9, 571–587*

En el año 1958 otro hombre que pasaría a la historia, George Mathè, trató a seis físicos que habían enfermado como consecuencia de la exposición a la radiación durante el accidente de un reactor nuclear en Yugoslavia. Uno de ellos falleció debido a la alta dosis de radiación que había recibido durante el accidente, y otro apenas estaba afectado. El Dr. Mathè sometió a los otros cuatro físicos a dosis de radiación casi letales, y posteriormente les inyectó médula ósea de donantes sanos. Los cuatro sobrevivieron. Sin embargo, lo que hizo que este científico pasara a la historia fue lograr la primera curación de un paciente con leucemia mediante un trasplante de médula ósea, a pesar de que posteriormente falleciera por complicaciones relacionadas con lo que se identificó después como enfermedad injerto contra huésped crónica (EICH crónica)⁹. El Dr. Mathè demostró que las células madre inyectadas sustituían a las células del receptor previamente eliminadas por la radiación, restableciendo así el daño celular. Además, descubrió que las células del donante eran capaces de luchar contra las células tumorales, y que las células del receptor podían atacar a las del donante, convirtiéndose la prevención del rechazo del injerto en uno de los puntos clave del trasplante de médula ósea.

Para el año 1967, las principales incógnitas sobre la tolerancia y el rechazo de este tipo de trasplante habían sido establecidas. Los investigadores buscaban solución al hecho de que las células de la MO que se injertaban con éxito podían establecer una respuesta inmune contra los tejidos del receptor, en lo que luego se llamó enfermedad de injerto contra huésped (EICH). La gravedad de la respuesta inmune hacia el receptor, así como la compatibilidad hística estaban bajo el control de un sistema mayor y múltiples sistemas menores de compatibilidad. La reacción de injerto contra huésped podía ser controlada con inmunosupresores como metotrexato, mientras que la ciclofosfamida como único agente podía causar la inmunosupresión necesaria para permitir el injerto exitoso¹⁰.

2.2 HLA (ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO)

2.2.1 Descubrimiento del HLA

Entre 1954 y 1958 se definieron los antígenos de histocompatibilidad, los antígenos leucocíticos humanos (HLA) utilizando anticuerpos en el suero de pacientes que habían recibido transfusiones o en mujeres embarazadas. La importancia de estos antígenos en los trasplantes de médula ósea se puso de manifiesto en experimentos posteriores con perros, a los que se sometía a dosis letales de radiación y posteriormente se les trasplantaba médula ósea compatible en el sistema DLA (el equivalente al HLA en humanos). Aquellos perros que recibían un trasplante con disparidad en el sistema DLA tras la dosis letal de radiación, morían por rechazo del injerto o por EICH. Sin embargo, la mayoría de los receptores de médula DLA-idéntica, especialmente aquellos a los que les fue administrado metotrexato posteriormente para tratar de evitar la EICH, lograron una buena supervivencia a largo plazo. Estos estudios, llevados a cabo por Donald Thomas, sentaron las bases para comenzar a realizar trasplantes de progenitores hematopoyéticos entre hermanos.

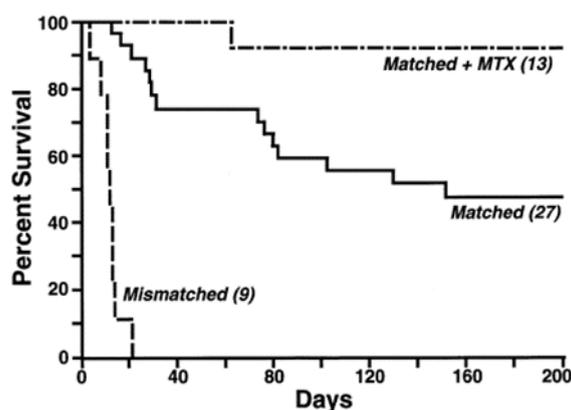


Figura 2. Thomas, E.D., (1999) *A history of haemopoietic cell transplantation*. *British Journal of Haematology*, 105, 330-339.

En 1968, *Gatti et al*¹¹ realizaron el primer trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico exitoso en un paciente con inmunodeficiencia combinada severa cuyo donante era su hermano, al que suponían HLA-idéntico. Sin embargo, en tipajes posteriores se descubrió que diferían en un antígeno. Un año más tarde, en 1969, el equipo de TPH de Seattle (donde trabajaba Thomas) comenzó a realizar trasplantes utilizando como donantes hermanos HLA-idénticos de los pacientes que se encontraban en estadios finales de leucemia aguda o anemia aplásica. Con el primer paciente, en fase blástica de una leucemia mieloide crónica, ocurrió lo mismo que en el caso anterior; se le realizó el trasplante de un hermano supuestamente HLA-idéntico y posteriormente se vio que diferían en un antígeno. Este paciente logró recuperarse de una EICH aguda, pero falleció poco después a causa de una infección oportunista por citomegalovirus (CMV), lo que planteaba las complicaciones por inmunoincompetencia tras un TPH¹².

En la década de los 70, la evaluación del papel del trasplante de médula ósea (TMO) en el tratamiento de la leucemia no era fácil, ya que la mayoría de los pacientes habían sido trasplantados en fases avanzadas de la enfermedad, tras el fracaso de la terapia convencional

con quimioterapia. Sin embargo, Thomas informó sobre 100 pacientes que habían recibido un trasplante HLA-idéntico de sus hermanos. De estos 100 pacientes, 17 continuaban vivos 3 años más tarde y, de estos, 8 permanecieron sanos hasta el año 2000^{13,14}. Estos datos iniciales indicaban que el TMO de donante alogénico permitía curar y alargar la supervivencia de pacientes con leucemia aguda o crónica en fase avanzada con esperanzas de vida iniciales de tan sólo unos meses. Estos datos ahora sí justificaban el uso curativo del trasplante en estos pacientes. A finales de los años 70, se publican los primeros datos de trasplantes de médula ósea alogénicos realizados a pacientes que se encontraban en primera remisión de la enfermedad o en fases precoces de la misma, demostrando un incremento en la supervivencia hasta del 60%.

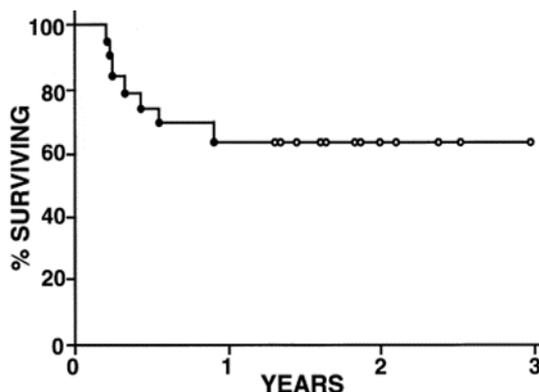


Figura 3. Thomas, E.D. et al (1977a). One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood*, 49, 511–533.

En los años 80, los resultados de los estudios previos llevaron a tratar de aplicar el trasplante de progenitores hematopoyéticos a pacientes con enfermedades hematológicas malignas muy agresivas y con gran probabilidad de fracaso de los tratamientos habituales¹⁵. Una de estas enfermedades fue la leucemia granulocítica crónica, que no respondía a los tratamientos habituales y presentaba una gran letalidad a los 4-5 años. Los primeros intentos de tratar esta enfermedad con TPH tanto con donantes singénicos¹⁶ como con donantes alogénicos¹⁷ proporcionaron remisiones de la enfermedad durante largos periodos de tiempo en pacientes preparados previamente con dosis elevadas de quimio-radioterapia.

La aplicación del TMO en pacientes con enfermedades no malignas fue llevada a cabo por primera vez también por Thomas en pacientes con anemia aplásica^{18,19}. La supervivencia fue aproximadamente del 40% en pacientes que fueron trasplantados tras múltiples fracasos en las transfusiones u otras terapias. Este porcentaje mejoró notablemente cuando los trasplantes se llevaban a cabo en fases iniciales de la enfermedad y además se agregaba un régimen inmunosupresor basado en ciclofosfamida, globulina antitimocito, metrotexato y ciclosporina A para la inmunoprofilaxis de la EICH²⁰. El TPH se empezó a utilizar también en el tratamiento de talasemia mayor^{21,22} y anemia de células falciformes²³.

2.2.2 Papel del HLA

El antígeno leucocitario humano (HLA) juega un papel crítico en el trasplante de progenitores hematopoyéticos, por lo que la elección del donante requiere una evaluación rigurosa de la

disponibilidad y la compatibilidad HLA entre el receptor y sus potenciales donantes.

Tradicionalmente, la selección del donante de progenitores hematopoyéticos se ha basado en la selección de una persona HLA idéntica o casi idéntica al receptor (hermanos gemelos). Sin embargo, no siempre se encuentra un donante válido para todos los pacientes, por lo que actualmente existe la posibilidad de llevar a cabo trasplantes entre personas HLA no idénticas, estén relacionadas o no. Los avances que se han producido en los últimos años permitiendo un estudio más detallado del HLA y del papel de los genes de los receptores de células NK (en el caso de los trasplantes haploidénticos) han aportado un mayor conocimiento sobre los factores a tener en cuenta en el donante, y esto se ha reflejado en una mejoría de los resultados en trasplantes de donante no relacionado.

Los HLA pueden llevar a cabo la respuesta inmune tanto por la presentación de determinados péptidos como por el reconocimiento de fragmentos polimórficos de moléculas extrañas de HLA, lo que explica que la disparidad en este antígeno esté asociada a complicaciones como fracaso del injerto, retraso en la reconstitución del sistema inmune, EICH e incremento de la mortalidad. Debido a la dificultad de la mayoría de los pacientes de encontrar un donante HLA idéntico, los esfuerzos actuales están centrados en identificar disparidades HLA que sean bien toleradas. La influencia de factores no genéticos en la tolerabilidad de trasplantes entre HLA no idénticos es evidente, de modo que la elección de un donante se debe basar tanto en factores genéticos como no genéticos.

2.2.3 Tipaje del HLA

Los loci de HLA de clase I y II se localizan en el brazo corto del cromosoma 6. Son los genes más polimórficos de todo el genoma humano, con un diseño en el que los genes están más agrupados y siguen un patrón en mosaico. Cada persona tiene 12 genes que codifican HLA-A, -B y -C, que son los de clase I, y HLA-DR, -DQ y -DP, que son los de clase II. La mayoría de estos genes son altamente polimórficos, pudiendo presentar desde 13 (HLA-DRB4) hasta 699 (HLA-B) alelos por locus. Esta gran diversidad alélica ha dificultado a lo largo de la historia el tipaje de alta resolución del DNA del HLA.

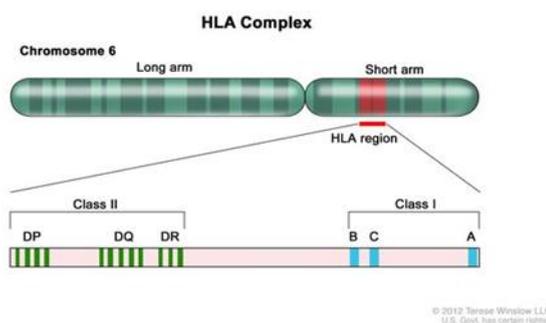


Figura 4. Rui Lin et al. *The genetics of multiple sclerosis. Practical Neurology* 12, Issue 5.

La determinación de los antígenos HLA se basa fundamentalmente en dos clases de métodos: los serológicos y los basados en técnicas de genética molecular. Dentro de los métodos serológicos, destaca el estudio de la microlinfocitotoxicidad, basado en poner en contacto linfocitos aislados del sujeto a estudio con anticuerpos monoclonales anti-HLA situados en un panel capaces de reconocerlos, a los que se adiciona suero de conejo como fuente de complemento. Tras el periodo de incubación requerido, se observa si ha habido una reacción antígeno-anticuerpo²⁴. Los métodos que se utilizan actualmente se basan en técnicas de genética molecular y son la amplificación de una secuencia específica de un cebador por PCR (PCR-SSP), amplificación de una secuencia específica de oligonucleótido por PCR (PCR-SSO), secuencia basada en el tipaje (SBT) y análisis de conformación basados en una muestra de referencia (RSCA)^{25,26}.

- *PCR-SSP/ PCR-SSO*: ambos se basan en el uso de cebadores para reaccionar o detectar motivos polimórficos específicos y previamente conocidos que estén presentes en el fragmento amplificado del alelo HLA. El principal inconveniente de estos métodos es que ambos se basan en el screening de un número limitado de polimorfismos ya conocidos, por lo que cuando en una muestra hay un alelo nuevo puede ocurrir un error en el tipaje.
- *SBT* utiliza cebadores genéricos dirigidos hacia regiones conservadas de un locus, para amplificar los exones polimórficos de todos los alelos. Aunque SBT es válido para detectar alelos HLA previamente conocidos, no es completamente capaz de tipificar nuevas combinaciones de polimorfismos conocidos. Este inconveniente se puede resolver separando los alelos por grupos o con una PCR alelo-específica, clonando, o mediante el uso de técnicas conformacionales.
- *RSCA* ha logrado alcanzar resultados de alta resolución sin los problemas presentados en los métodos expuestos previamente.

El hecho de realizar un buen tipaje HLA a la hora de la elección del donante permite la reducción del riesgo de que se produzcan ciertas complicaciones (EICH) y además permite incrementar las probabilidades de encontrar un buen donante.

2.2.4 Número de disparidades HLA

Un estudio reciente ha comparado los resultados posteriores de pacientes que recibieron un trasplante de un donante HLA 10/10 no relacionado y los que lo recibieron de un hermano HLA idéntico. El estudio muestra que la supervivencia general, tiempo libre de enfermedad, mortalidad relacionada con el trasplante, recaídas de la enfermedad y EICH agudo no dependen del tipo de donante, de modo que un donante no relacionado bien seleccionado puede llegar a presentar resultados tan buenos como un donante HLA idéntico²⁷. Sin embargo, la disparidad inmunogenética entre donante y receptor se asocia a una peor progresión del receptor, especialmente en cuanto a una elevada incidencia de complicaciones relacionadas con el trasplante, ya que a medida que la disparidad entre los HLA I y II aumenta, lo hacen en la misma medida el riesgo de fracaso del injerto, EICH y mortalidad^{28,29}.

2.2.4.1 Disparidades permitidas

Los loci HLA que más influencia tienen sobre el resultado post-trasplante de aquellos que lo han recibido de donantes no relacionados son HLA-A, -B, -C y -DRB1, ya que disparidades en estos alelos son factores de riesgo para sufrir una EICH aguda y las disparidades en DRB1 aumentan la incidencia de mortalidad. El programa japonés de donantes de médula mostró el efecto del

emparejamiento de los alelos HLA de clase I sobre el desarrollo de EICH severa y aguda y la importancia del emparejamiento de los alelos HLA-A y -B para una mayor supervivencia^{30,31}. El *Fred Hutchinson Cancer Research Center* (FHCRC) y el *National Marrow Donor Program* (NMDP) mostraron la importancia del emparejamiento de HLA clase II para evitar la EICH e incrementar la supervivencia^{32,33}.

El análisis de disparidades en HLA-DPB1 ha mostrado hallazgos de interés: *Crocchiolo et al*³⁴ informaron sobre un incremento de 2 años de la supervivencia en trasplantes con disparidad HLA-DPB1 permitida sobre aquellos con una disparidad en este alelo no permitida (54.8% vs 31.9%, $P=0.005$). Del mismo modo, *Zino et al*³⁵ encontraron un riesgo significativamente mayor de mortalidad en pacientes con disparidades DPB1 no permisivas, en comparación con aquellos sin esas disparidades.

2.2.4.2 HLA-DQ y HLA-DP

Menos del 20% de los trasplantes emparejados para HLA-A, -B, -C, -DRB1 y -DQB1 son también compatibles para HLA-DPB1, debido al débil desequilibrio en la unión entre los loci DR/DQ y el locus DP. Por lo tanto, aproximadamente el 80% de los trasplantes de donante no relacionado son llevados a cabo a través de la barrera que supone el HLA-DPB1. Las primeras investigaciones llevadas a cabo sobre este asunto no terminaban de tener claro el significado del HLA-DP como un posible factor determinante en el trasplante. Sin embargo, *Schaffer et al*³⁶ determinaron que la disparidad para HLA-DP suponía un factor de riesgo de mortalidad si se comparaba con el emparejamiento DP. La mayoría de los estudios llevados a cabo en este aspecto ahora coinciden en que HLA-DQB1 no necesita ser tomado en cuenta en un donante emparejado, pero existen evidencias de que puede existir un efecto negativo aditivo en la disparidad DQB1 si existe también una disparidad en otro locus³⁷.

Los papeles de los loci HLA-DQ y -DP no están todavía completamente definidos. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta ahora sugieren fuertemente que cuando los pacientes tienen la oportunidad de recibir el injerto de un donante emparejado, la selección de éste frente a otro que no lo esté puede reducir el riesgo de complicaciones post trasplante.

2.2.5 Importancia del estadio de la enfermedad

Es importante tener en cuenta este punto, ya que el efecto de realizar un trasplante con una disparidad en un solo alelo puede variar mucho en función del diagnóstico subyacente del receptor. Diversos estudios avalan la idea de que, cuando se realiza un trasplante con una sola disparidad HLA (9/10), el riesgo de mortalidad es mayor que en trasplantes HLA 10/10 en pacientes con leucemia aguda en estadios iniciales, pero no en aquellos con la enfermedad ya avanzada.

Estos resultados sugieren que el efecto negativo de la disparidad HLA queda compensado por la gravedad de una enfermedad avanzada³⁸. Por lo tanto, ante un paciente en un estadio inicial de la enfermedad que no tiene un donante emparentado hay que sopesar si la mejor opción es esperar a que haya un donante disponible, de modo que se incremente la mortalidad debido a la demora en el tratamiento desde que se realiza el diagnóstico, o si realizar el trasplante de un donante no emparentado en el momento del diagnóstico, con el riesgo de mortalidad que conllevan estos trasplantes.

2.2.6 Incompatibilidad del ligando de los receptores de células NK (KIR)

Tanto las células *Natural Killer* (NK) como subpoblaciones de linfocitos T expresan los receptores de NK. La actividad de las células NK está controlada por el reconocimiento de moléculas HLA de clase I en las células diana por los receptores NK activadores e inhibidores. En función del tipo de KIR, la unión del HLA puede estimular o inhibir la capacidad de las NK de destruir células extrañas, incluyendo las células tumorales. La coexistencia de la incompatibilidad de ambos tipos en las mismas moléculas de HLA hace difícil mostrar las ventajas en la disparidad del ligando KIR claramente. Las fuertes reacciones inmunes provocadas por el reconocimiento de las células T de moléculas HLA incompatibles, probablemente puede superar el efecto favorable del desparejamiento simultáneo del ligando KIR³⁹. Se han llevado a cabo diversos estudios acerca del efecto de la disparidad en el ligando KIR sobre la progresión de un trasplante de donante no relacionado en un injerto sin depleción de células T, concluyéndose en la mayoría de ellos la existencia de una relación entre disparidad en el KIR y mayores tasas de recuperación y supervivencia libre de enfermedad^{40,41}.

El *gold standard* actual es un donante emparejado para 8/8 alelos HLA. Sin embargo, es conocido que existen ciertas disparidades permisivas, que no dependen sólo de los potenciales efectos adversos de las mismas, sino también de la urgencia del TPH, el efecto esperado injerto frente a tumor (*Graft versus tumor – GVT*) y la eficacia potencial de una terapia alternativa disponible para el paciente. El estudio del genotipo KIR en aquellos potenciales donantes no relacionados sin disparidades HLA actualmente no está generalizado. Sin embargo, su tipaje y la toma de decisiones en función del mismo podrían cambiar la práctica clínica en el futuro, especialmente en ciertos tipos de trasplante haploidéntico.

2.2.7 Nivel de disparidad del HLA

El grado de disparidad afecta de forma diferente a la progresión del trasplante en función de si es una disparidad a nivel antigénico o a nivel alélico. La disparidad antigénica está frecuentemente asociada con más de diez sustituciones de aminoácidos en las moléculas HLA que pueden ser fácilmente reconocidas por las células inmunocompetentes, de forma que se produzca una respuesta inmunitaria⁴². La disparidad a nivel alélico generalmente tan sólo conlleva una o unas pocas sustituciones de aminoácidos, lo que produce respuestas inmunes más leves. Existen datos contradictorios en cuanto a la importancia de seleccionar una disparidad a nivel alélico en vez de antigénico^{43,44}.

Gracias al extenso estudio en el campo de los trasplantes alogénicos, se han descrito tres conceptos básicos en torno a la disparidad del HLA: el vector de incompatibilidad entre donante y receptor, el número de disparidades HLA y los locus o loci específicos que son dispares. El emparejamiento HLA es el factor predictivo más consistente en cuanto al resultado tras un trasplante de progenitores hematopoyéticos de un donante no relacionado. Existen ciertas combinaciones de disparidades HLA que incrementan el riesgo de EICH, pero éstas pueden ser compensadas por un riesgo menor de recurrencia post-trasplante de la enfermedad subyacente (mayor *Graft versus Leukemia – GVL*).

Vector de incompatibilidad de una disparidad HLA:

Puede ser visto desde la perspectiva del donante o del paciente. Desde la perspectiva del

donante, la presencia de diferencias HLA-A, -B, -C, -DRB1 en el receptor, estimula el reconocimiento de injerto contra huésped (GVH) que está asociado con un mayor riesgo de desarrollar la propia enfermedad, lo que conlleva un incremento de la mortalidad respecto a los trasplantes sin disparidad. Por el contrario, si hablamos desde la perspectiva del paciente, la presencia de disparidad en el donante provoca un reconocimiento de huésped frente a injerto (HVG), asociado a un riesgo aumentado de fracaso del injerto. El significado clínico del vector de incompatibilidad fue descrito inicialmente en receptores de trasplantes de alto riesgo⁴⁵. En estas series, los pacientes que eran homocigotos para el locus HLA dispar tenían una tasa menor de EICH aguda grados III-IV (18% vs 52%), pero una tasa mayor de fracaso del injerto (15% vs 6%) que los pacientes heterocigotos para el mismo locus. Esto confirma que disparidades en el vector HVG son bien toleradas respecto a EICH, y que la dirección de la incompatibilidad tiene consecuencias biológicas.

Número de disparidades y locus en el que se encuentran:

Estos dos parámetros son importantes para dar forma al porvenir clínico tras un trasplante de estas características. Tras varios estudios retrospectivos se ha demostrado un efecto negativo aditivo de la disparidad en múltiples locus HLA, es decir, el riesgo de EICH y mortalidad se incrementa a medida que lo hace el número de disparidades HLA entre donante y receptor, especialmente cuando hay disparidad en 3 o más HLAs^{46,47}. En la región de clase II, los genes HLA-DRB3, DRB4 y DRB5 son codificados en haplotipos específicos HLA-DRB1. Cuando donante y receptor son dispares en HLA-DRB1, hay una elevada probabilidad de una disparidad adicional en DRB3/4/5, por lo que cuando se identifica una disparidad HLA-DRB1, se requiere una caracterización adicional de DRB3/4/5, y los esfuerzos realizados para disminuir el número de disparidades HLA-DRB disminuirán los riesgos post trasplante del paciente.

El *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) llevó a cabo un análisis cuyo principal objetivo era definir variables que puedan influenciar en la progresión del paciente tras recibir un trasplante de un donante no relacionado⁴⁸. Se observó que la supervivencia era mayor en aquellos pacientes cuyos donantes eran jóvenes de entre 18 y 32 años sin disparidad. Por cada 10 años de aumento en la edad del donante, el riesgo de mortalidad se incrementaba en un 5.5%. Otro factor relacionado con un peor funcionamiento post trasplante es el número de disparidades HLA (a mayor número, peor pronóstico). Otros factores estudiados tales como sexo o status serológico de CMV no están asociados con la supervivencia.

2.2.8 GVL y disparidad HLA

Diversos estudios han confirmado que el efecto negativo de la disparidad HLA en la EICH puede compensarse con un menor riesgo de recaída en la enfermedad^{49,50}. En los trasplantes con depleción de células T, la disparidad simultánea para HLA-DP y otros loci se asocia a mejores resultados en pacientes con enfermedades más avanzadas⁵¹.

El papel de HLA-DP en GVL ha sido recientemente descrito por JMDP, donde se confirma el efecto beneficioso sobre la GVL, y además se ha planteado que cada disparidad HLA no confiere necesariamente el mismo efecto GVL beneficioso. Cuando se analizaron las disparidades HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 y DPB1, sólo las disparidades -C, y -DPB1 se asociaban con un menor riesgo de recaída de la enfermedad. De hecho, las disparidades HLA-C se relacionan con un efecto protector frente la recaída, ocurriendo algo similar con HLA-DPB1.

2.3 TIPOS DE TRASPLANTE

2.3.1 Autólogo

El donante de los progenitores hematopoyéticos es el propio enfermo que los va a recibir. Este tratamiento se basa en intentar eliminar las células malignas mediante altas dosis de quimioterapia, asociada o no a radioterapia, y posteriormente injertar células del propio paciente para recuperar lo antes posible la función medular. Este tipo de trasplante presenta bajo riesgo de complicaciones ya que no se produce rechazo, pero mayor riesgo de recidivas.

2.3.2 Singénico

El donante es un hermano gemelo univitelino, de modo que tras eliminar las células neoplásicas con quimio y/o radioterapia, se sustituye la población celular anómala por una normal procedente de un hermano sano. En este tipo de trasplantes no existe efecto antileucémico del injerto, ni EICH, ni rechazo del injerto ya que las células de donante y receptor son totalmente idénticas, por lo que, igual que en el caso anterior este tipo de trasplantes presentan un menor riesgo de complicaciones, pero una mayor tasa de recaída de la enfermedad.

2.3.3 Alogénico

En este tipo de trasplante al igual que en los casos anteriores, se trata de eliminar la población de células neoplásicas previamente al trasplante con quimio o radioterapia. Posteriormente, se injertan las células madre provenientes de un donante sano. En este caso, las células del donante tienen un efecto antileucémico, de modo que contribuyen a la eliminación de las células malignas residuales. Esto es gracias a los linfocitos T del donante que se encuentran en el injerto. Sin embargo, estas células también pueden reconocer como extrañas a las células del organismo del receptor, desencadenándose en este caso la enfermedad de injerto contra huésped. Por lo tanto, en el trasplante alogénico hay mayor riesgo de complicaciones, pero menor riesgo de recaídas. El donante puede ser:

- Emparentado: el donante es un familiar. El que más probabilidad tiene de ser compatible es un hermano, y ésta es del 25%, siendo de menos del 5% en otros familiares.
- No emparentado: el donante no es familiar y su selección se basa en la compatibilidad HLA con el receptor.

2.4 REGÍMENES DE ACONDICIONAMIENTO ANTES DEL TRASPLANTE

Un paso fundamental para realizar un trasplante de progenitores hematopoyéticos (ya sea autólogo o alogénico) en pacientes con enfermedades malignas es el régimen de acondicionamiento previo. Su administración tiene como objetivos conseguir una inmunosupresión suficiente como para evitar el rechazo posterior del injerto y destruir el mayor número posible de células tumorales.

En los años 50 ya era conocido que las células leucémicas son altamente radiosensibles, por lo que se utilizaban dosis letales de radiación corporal total (TBI) en combinación con agentes

quimioterápicos. Sin embargo, con el tiempo se conoció que las células T del donante llevaban a cabo reacciones inmunes frente a las células malignas del receptor (GVT), por lo que se desarrollaron los regímenes de preparación de intensidad reducida y no mieloablativos, permitiendo que el TPH fuera aplicable a pacientes más mayores y clínicamente más complicados (con pluripatología) que no podían ser sometidos a altas dosis de radiación.

La elección del régimen de acondicionamiento óptimo para cada paciente se hace teniendo en cuenta ciertos factores relacionados con la enfermedad (como el diagnóstico y estado de remisión de la enfermedad), y otros relacionados con el paciente (como la edad, disponibilidad de donante y presencia de comorbilidades).

2.4.1 Regímenes mieloablativos

Pueden basarse en una irradiación corporal total o en altas dosis de quimioterapia. Los primeros consisten en la administración de 12-16 Gy (generalmente fraccionados) junto con otros agentes quimioterápicos, fundamentalmente ciclofosfamida⁵⁵. Los basados en alta dosis de quimioterapia sustituyen la TBI por uno o varios agentes quimioterápicos en altas dosis. El pilar de este régimen son los agentes alquilantes debido a su perfil de toxicidad y su efecto sobre células tumorales que no se encuentran en división. Un régimen muy utilizado ha sido aquel basado en la combinación de altas dosis de busulfan (16 mg/kg) y ciclofosfamida (120 mg/kg)⁵⁶. Estos regímenes provocan una ablación de la hematopoyesis impidiendo la recuperación hematológica autóloga, por lo que requieren soporte celular.

2.4.2 Regímenes de intensidad reducida y no mieloablativos (RIC)

Los regímenes no mieloablativos solamente causan mínimas citopenias, sin requerir soporte celular. Aquellos regímenes de toxicidad reducida son el intermedio entre los dos anteriores, diferenciándose del primero en las dosis de los agentes quimioterápicos empleados (o combinaciones de los mismos) y la reducción de dosis de radiación corporal, y del segundo en que éste sí requiere soporte celular.

Se basan fundamentalmente en reemplazar los agentes citotóxicos del régimen por otros menos tóxicos, pero con una función inmunosupresora que permita el éxito del injerto. El quimerismo completo del donante se desarrolla rápidamente tras el régimen de intensidad reducida, pero puede llevar meses en el no mieloablativo. Aunque un quimerismo combinado pueda ser suficiente para corregir el fenotipo de ciertos desórdenes congénitos no malignos, suele ser necesario el quimerismo completo del donante para lograr los efectos GVT deseados para controlar las enfermedades malignas⁵⁷. Los regímenes más utilizados incluyen fludarabina y dosis intermedias de agentes alquilantes, como tiotepa, melfalan y busulfan, mientras que los no mieloablativos a menudo asocian una dosis baja de TBI (2 Gy) con o sin fludarabina.

2.5 ELECCIÓN DEL DONANTE. DONANTES ALTERNATIVOS

Cuando un paciente tiene que ser sometido a un trasplante de progenitores hematopoyéticos se plantea el problema de la elección del donante. El donante ideal es un hermano gemelo univitelino, genéticamente idéntico al paciente. Sin embargo, muy pocos pacientes lo tienen, por lo que se busca a un familiar genéticamente idéntico. Las probabilidades de encontrarlo también son bajas: los hermanos tienen una probabilidad de un 25% de ser totalmente compatibles con

el paciente, y en otro familiar (padres, hijos...) la probabilidad pasa a ser menor del 5%. Por lo tanto, para aquellos pacientes que carecen de familiares totalmente compatibles y de donante no familiar HLA idéntico se han definido tres posibilidades de donantes alternativos de modo que puedan acceder al trasplante. Estas alternativas son el trasplante haploidéntico familiar, el trasplante con disparidad HLA de donante no relacionado y el trasplante de células de cordón umbilical.

2.5.1 Trasplante haploidéntico familiar

Los genes en el cromosoma 6 donde se codifican los antígenos HLA están situados muy próximos entre sí, y como resultado de esto un individuo es probable que herede una colección completa de genes de cada progenitor. Cada colección se denomina haplotipo. A pesar de que existe sólo un 25% de posibilidades de compartir con un hermano los dos haplotipos parentales, es fácil encontrar a un miembro de la familia que coincida con el paciente en uno de los haplotipos, de modo que pueda ser su donante. Se estima que aproximadamente el 95% de los pacientes puede encontrar al menos un donante (el paciente promedio tiene dos o más opciones)⁵⁸. Además, este tipo de trasplante puede proporcionar más exactitud en la selección del donante en términos de edad, estado de CMV y compatibilidad ABO⁵⁹. Es importante en este tipo de trasplantes que, en caso de fallo del injerto, existe la posibilidad de un segundo injerto del donante inicial o de otro miembro de la familia que esté disponible como donante alternativo.

En comparación con aquellos enfermos que tienen donantes completamente emparejados disponibles, los pacientes sometidos a trasplantes haploidénticos tras un acondicionamiento con mieloablación, presentaban tasas más elevadas de rechazo del injerto, con la extensión del desparejamiento HLA como predictor de la incidencia de riesgo de fallo del injerto⁶⁰. Otra complicación histórica notable fue la EICH aguda, que se desarrollaba más a menudo y rápido tras el trasplante: los pacientes que reciben trasplantes con disparidad tienen una oportunidad más elevada de desarrollar EICH grado II-IV (70%) en una media de 14 días tras el trasplante, en comparación con la incidencia del 42% a los 22 días para el grupo de aquellos sometidos a trasplante sin ninguna disparidad⁶¹.

Una de las mayores limitaciones de este tipo de trasplante es la intensa aloreactividad bidireccional entre las moléculas HLA incompatibles. Se ha trabajado en la manipulación de los linfocitos T del donante, de modo que se puedan suavizar los efectos del rechazo del injerto y de la EICH. Para tratar de resolver este tipo de inconvenientes, se pueden tomar diferentes estrategias basadas en dos modalidades. Por un lado, el inóculo puede estar libre de células T usando diferentes técnicas seguidas de diversas medidas destinadas a incrementar el éxito del injerto y reducir las complicaciones por infección (eliminación de células T con megadosis de progenitores CD34+ seleccionados, eliminación de células T con condicionamiento de intensidad reducida, depleción CD45RA entre otras). Por otro lado, el trasplante puede llevarse a cabo manteniendo los linfocitos T del donante, pero en este caso se llevan a cabo medidas para en el paciente para reducir el riesgo de EICH (dosis elevada de ciclofosfamida post-trasplante, rapamicina postrasplante...).

Hasta la fecha, se han llevado a cabo numerosos estudios para tratar de evaluar cómo son los acontecimientos posteriores al trasplante (tasa de éxito del injerto, de recaída, de EICH agudo y crónico), así como la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global. Las técnicas que se emplean actualmente en el trasplante haploidéntico han tenido un impacto positivo en

varios aspectos del resultado, como la supervivencia global, periodo libre de enfermedad e incidencia de EICH aguda o crónica. Los análisis retrospectivos que se han llevado a cabo hasta el momento indican que este tipo de trasplante puede competir con los llevados a cabo de donantes con disparidad no relacionados. La facilidad del manejo post-trasplante con ciclofosfamida ha permitido su adopción en todo el mundo. Según la EMBT, existe una tendencia al alza de este tipo de trasplantes, al tiempo que los trasplantes de sangre del cordón umbilical se han estancado⁶².

Con la estratificación del riesgo de la enfermedad, el papel de la enfermedad subyacente en la posible recaída es cada vez más claro. Para pacientes con un riesgo bajo o moderado, los resultados de este tipo de trasplantes son esperanzadores debido al menor riesgo de recaída que conllevan y las bajas tasas de EICH tanto aguda como crónica, mientras que para conocer la progresión de los pacientes con riesgo elevado son necesarios más estudios.

2.5.2 Trasplante de donante con disparidad HLA no relacionado

Actualmente hay alrededor de 25 millones de personas en todo el mundo registradas como donantes voluntarios de médula ósea. Puesto que la mayoría de los pacientes tienen que recurrir a esta opción porque sólo tienen como posibles donantes aquellos con disparidad HLA no relacionados, se han llevado a cabo investigaciones con el fin de tratar de identificar posibles combinaciones de disparidad HLA que aparentemente se toleren mejor que otras. Se basan en el nivel de resolución de la disparidad HLA (alélica o antigénica), la presencia de disparidad en residuos de aminoácidos específicos y el nivel de expresión alotípico de la disparidad HLA tanto de donante como de receptor.

2.5.2.1 Alelos y antígenos

La disparidad alélica del HLA se define como una diferencia entre dos alotipos HLA que pueden ser detectados únicamente con métodos de alta resolución molecular, mientras que la disparidad a nivel antigénico ocurre entre alotipos HLA que se detectan con aloantisuero dirigido contra epítomos de la proteína HLA expresada.

2.5.2.2 Disparidad en residuos de aminoácidos específicos

Este modelo trata de probar la hipótesis de que la presencia de residuos de aminoácidos específicos de la proteína HLA expresada pudieran ser inmunogénicos y llevar a un reconocimiento de donante frente a huésped, que se manifiesta clínicamente con un incremento del riesgo de EICH aguda y de la mortalidad.

2.5.2.3 Expresión HLA

La expresión de HLA-C y HLA-DP afecta al control de las infecciones (SIDA y hepatitis B) y al riesgo de las enfermedades autoinmunes (enfermedad de Crohn)^{52,53}. La expresión elevada de HLA puede facilitar la presentación de antígenos extraños llevando a un aumento de la vigilancia inmunológica y, en consecuencia, un menor riesgo de progresión de la enfermedad. Por el contrario, la misma expresión elevada de HLA puede provocar un ataque autoinmune de los tejidos del huésped, llevando a la autoinmunidad como es el caso de la enfermedad de Crohn.

Se conoce que el nivel de expresión de los productos de los genes HLA-DRB3, DRB4, DRB5, DQB1

es generalmente menor que los de HLA-A, B, C y DRB1. En un análisis reciente de trasplantes 8/8⁴⁷, la disparidad en un gen de baja expresión no se asociaba a riesgos más altos, sin embargo, en los trasplantes 7/8, la presencia de tres o más disparidades de baja expresión en alguno de los genes mencionados anteriormente, se asociaba a una mortalidad general superior y a una mayor mortalidad relacionada con el trasplante. La disparidad para alotipos HLA-C y HLA-DP de baja expresión es mejor tolerada que aquella en alotipos de alta expresión. En los trasplantes de donante no relacionado con una sola disparidad en HLA-C, a medida que el nivel de expresión de la disparidad del alotipo HLA-C aumenta, el riesgo de EICH agudo o mortalidad no relacionada con una recidiva aumenta también.

Estos datos demuestran que los polimorfismos presentes en regiones reguladoras de los genes HLA tiene una significación clínica, destacando la necesidad de un mayor entendimiento de la expresión de HLA a la hora de definir disparidades permisivas.

En conclusión, hay datos suficientes que apoyan el uso de donantes no relacionados con disparidades seleccionadas cuando no hay donantes compatibles disponibles. La selección del donante debe tener en consideración algunos parámetros, como que el donante sea joven, exista una única disparidad, evitar la disparidad de dos locus HLA-DRB1/DQB1⁵⁴, evitar la disparidad simultánea de HLA-DRB3/4/5 cuando ya existe una disparidad HLA-DRB1 y evitar también la disparidad de alotipos de alta expresión HLA-C y HLA-DP en el paciente. Teniendo en cuenta estas premisas, la disponibilidad de un donante no relacionado como terapia curativa puede ser incrementada sin que lo hagan los riesgos para el paciente.

2.5.3 Trasplante de células procedentes del cordón umbilical

El uso de sangre de cordón umbilical como fuente de progenitores hematopoyéticos trasplantables fue sugerido por primera vez por Hal Broxmeyer en 1982, por lo que la sangre procedente del cordón umbilical es una fuente alternativa de progenitores hematopoyéticos para aquellos pacientes que pueden beneficiarse de un trasplante alogénico. Estas células pueden ser criopreservadas y almacenadas, manteniendo su capacidad de proliferación durante más de 20 años.

Inicialmente, el trasplante a partir de células procedentes de cordón umbilical era una práctica limitada a edades pediátricas debido a la pequeña cantidad de células que se obtienen del cordón. Se han realizado trasplantes tanto de donantes relacionados como no relacionados, obteniendo unas tasas elevadas de éxito para una gran variedad de enfermedades hematológicas y enfermedades metabólicas por almacenamiento en niños.

Tras los prometedores resultados logrados en niños, el inicio de la experiencia de este tipo de trasplantes en adultos fue desalentador, con un 40% de pacientes fallecidos antes del día 100 post-trasplante. Durante los años posteriores se cuidó más la selección del paciente, se les dio un mejor cuidado de soporte y los investigadores se dieron cuenta de que la infusión de una dosis mayor de células se relacionaba con una mejor supervivencia. Varios estudios muestran que la edad y enfermedad avanzada son predictores de un peor funcionamiento del injerto y, en consecuencia, menor supervivencia. Se observó que la dosis celular que se infundía en el injerto era crucial para que el funcionamiento del injerto y la supervivencia posterior del paciente, lo cual mejoró la supervivencia en adultos.

Debido a la necesidad de mejorar la eficacia de este tipo de trasplante, se plantearon dos opciones: el trasplante doble de células de cordón o la selección del HLA. El trasplante doble mejoró la supervivencia en adultos, lo que permitió conocer, tras estudios posteriores, el hecho de que la dosis celular es crítica para el funcionamiento del injerto y la supervivencia. Además, el empleo del acondicionamiento no mieloablativo o de intensidad reducida permitía a pacientes de más edad o con más comorbilidades ser trasplantados de modo seguro. Varios estudios posteriores avalaron estas observaciones, mostrando una supervivencia libre de enfermedad tras un trasplante doble en adultos del 30 al 50%. Sin embargo, existen datos recientes sobre un incremento de la supervivencia libre de enfermedad en pacientes con leucemia en primera remisión que reciben un trasplante doble, pero sin ninguna ventaja en pacientes en segunda remisión respecto al trasplante único. Estos datos, por tanto, justifican lo apropiado de este tipo de trasplantes en niños, pero la necesidad de más estudios en su aplicación adultos.

Por otro lado, los avances en la selección de la mejor unidad de sangre de cordón para realizar el trasplante se han traducido en unos mejores resultados (el grupo *Eurocord* ha señalado un incremento de la supervivencia libre de enfermedad de un 23% antes del año 2000 a un 38% en los últimos años en trasplantes simples con mieloablación previa). En un análisis de 1061 trasplantes simples cuyos receptores eran tanto niños como adultos enfermos de leucemia o mielodisplasia, se dio una menor tasa de mortalidad relacionada con el trasplante en aquellos receptores de antígeno 6/6 HLA-A, -B, alelo -DRB1, independientemente de la dosis celular recibida. En una escala proporcional se observó que, en receptores de unidades disparejas, a mayor disparidad mayor requerimiento de dosis celular. La presencia de anticuerpos HLA contra las unidades que se van a injertar se considera un factor de mal pronóstico tanto para el trasplante simple como para el doble.

Varios investigadores han trabajado en posibles estrategias de expansión de células precursoras de cordón umbilical para aumentar la dosis celular. *Delaney et al* empleando el ligando *Delta-1* demostraron la expansión de células repobladoras a corto plazo y un incremento en el tiempo de injerto de neutrófilos a los 16 días. Se han obtenido algunos éxitos en el uso de nicotinamida en combinación con citoquinas para la expansión ex vivo de estas células en el contexto de un doble trasplante. Otros métodos para mejorar la eficacia del trasplante de cordón consisten en incrementar el *homing* y la nutrición de estas células en el microambiente hematopoyético. En ese campo se incluyen estudios experimentales que emplean la fucosilación de las células, la inhibición de la dipeptidilpeptidasa 4 y el pretratamiento de las células del donante con una PGE modificada. Una aproximación es la regulación ascendente de la expresión de CXCR4, que es expresada en CD 341 de las células progenitoras para incrementar la migración a la médula ósea.

En conclusión, el trasplante de progenitores hematopoyéticos provenientes de cordón umbilical en niños tiene una supervivencia superior o similar a los trasplantes estándar. En adultos el resultado a este tipo de trasplantes es cada vez mejor, según los resultados que se van obteniendo en estudios aleatorizados. Algunos de estos resultados muestran que el trasplante de cordón con disparidad es factible, y en el futuro puede ser posible lograr resultados similares que con el trasplante HLA-idéntico. Sin embargo, este tipo de trasplantes aún tiene que enfrentarse a unos cuantos desafíos como por ejemplo el retraso en la reconstitución inmune tras este tipo de trasplantes, que conlleva una incidencia incrementada de infecciones virales tardías potencialmente mortales.

3 HIPÓTESIS

Cuando un paciente tiene la necesidad de ser sometido a un trasplante de progenitores hematopoyéticos el donante ideal es un familiar HLA idéntico. Como muy pocos pacientes tienen esta opción, el siguiente paso es buscar un donante HLA idéntico no relacionado. A pesar de ello, existe aproximadamente un 30% de pacientes en los que no se encuentra un donante óptimo. En estos casos se recurre a donantes alternativos (trasplante haploidéntico familiar, no relacionado con disparidad en HLA o trasplante de células de sangre de cordón umbilical).

En el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV), centro de referencia a nivel nacional, los trasplantes alogénicos en los que se recurre al empleo de donantes alternativos son fundamentalmente de donante no relacionado con disparidad en uno o dos antígenos ("*mismatch*") o de donante familiar haploidéntico. Ambos tipos de trasplante emplean un régimen de acondicionamiento e inmunosupresor totalmente diferentes, especialmente este último. En el primer caso la inmunosupresión se basa en combinación de un inhibidor de calcineurina (tacrolimus generalmente) con metotrexate en pauta corta o micofenolato asociado o no con ATG (gammaglobulina anti-timocítica); en el segundo caso se basa en el uso de altas dosis de ciclofosfamida post-trasplante asociado a pauta corta de micofenolato y tacrolimus.

Diferentes series y estudios mundiales muestran que la disparidad en HLA es un factor crítico en la supervivencia global a corto y largo plazo; sin embargo, con el uso de ciclofosfamida post-trasplante en el modelo del trasplante haploidéntico parece evitarse este factor de mal pronóstico que supone la presencia de 3 o 4 disparidades. Nuestra hipótesis de trabajo es que el uso de ciclofosfamida post-trasplante es el factor que más influye en los resultados del trasplante haploidéntico y puede suponer una ventaja el hecho de utilizar éste como fuente de donante alternativo frente al no relacionado *mismatch*. De confirmar esta observación analizando los resultados de los trasplantes realizados en el HUMV, se podría valorar modificar tanto la elección de donante como el tratamiento inmunosupresor en este grupo de pacientes que requieran un donante alternativo.

4 OBJETIVOS

Objetivo principal: Evaluar y comparar la supervivencia global (SG) y la supervivencia libre de enfermedad (SLE) en pacientes con donante alternativo comparando el trasplante de donante haploidéntico familiar vs el trasplante de donante no relacionado con disparidad.

Objetivos secundarios:

- a) evaluar y comparar las tasas de fallo de implante en ambos grupos.
 - b) evaluar y comparar la incidencia de EICH aguda y crónica en ambos grupos.
 - c) evaluar y comparar la mortalidad relacionada con el procedimiento en ambos grupos.
 - d) analizar y comparar las causas de mortalidad en ambos grupos.
-

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO

Estudio descriptivo observacional retrospectivo sobre dos cohortes de pacientes.

5.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes con alotrasplante de progenitores hematopoyéticos realizados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla desde el año 2012 hasta el 2016. El estudio se realiza sobre dos grupos de pacientes sometidos a diferentes tipos de trasplante alogénico: TPH familiar haploidéntico y *mismatch* de donante no relacionado.

Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para someterse al trasplante además de ceder la información derivada del mismo para realizar diferentes estudios y transmitir datos a diferentes registros según la normativa vigente.

5.3 TAMAÑO MUESTRAL ESTIMADO

El tamaño muestral total es de 55 pacientes, de los cuales 30 fueron sometidos a un trasplante haploidéntico familiar y otros 25 a un trasplante de donante no relacionado con disparidad en HLA.

Criterios de inclusión: Pacientes sometidos a alotrasplante de progenitores hematopoyéticos haploidéntico familiar o *mismatch*, mayores de 18 años sin restricción del tipo de acondicionamiento ni de la fuente de progenitores hematopoyéticos.

Criterios de exclusión: Pacientes menores de 18 años en los que se haya perdido información o un seguimiento adecuado.

Muestreo: Pacientes que cumplen todos los criterios de inclusión.

Variables clínicas:

- Datos demográficos y relativos al paciente: código de paciente, fecha de nacimiento, edad, sexo, comorbilidad basal evaluada mediante HCTI-CI score (índice de comorbilidad pre-trasplante).
 - Datos de la enfermedad: Fecha de diagnóstico de la enfermedad, diagnóstico de la enfermedad, estado de la enfermedad al trasplante (remisión completa, remisión parcial, en progresión, refractaria al tratamiento), EBMT risk score, DRI (bajo, intermedio, alto, muy alto), trasplantes previos.
 - Datos del trasplante: Fecha del trasplante, tipo de donante (familiar, no emparentado), compatibilidad HLA (haploidéntico, con disparidad), grado de disparidad (antigénico o alélico), tipo de disparidad (A, B, C), fuente de células progenitoras hematopoyéticas (médula ósea o sangre periférica), acondicionamiento (mieloablativo o no mieloablativo),
-

estado serológico para CMV (donante/receptor), profilaxis de EICH, ATG (sí / no), quimera al día 30 (completa / incompleta), fallo de implante (sí/no), fecha del último seguimiento, estado del paciente en el último seguimiento.

- Datos de las complicaciones agudas: Fecha de retirada de la inmunosupresión, EICH agudo (EICHa) (sí/no), tipo de EICHa, grado EICHa, tratamiento de la EICHa, respuesta al tratamiento, infección por CMV (sí/no), enfermedad por CMV (sí/no), tratamiento de enfermedad por CMV.
- Datos de las complicaciones crónicas: EICHc (sí/no), fecha de aparición, tipo de EICHc, grado de EICHc (leve, moderado o grave) tratamiento de primera línea, respuesta al tratamiento.
- Datos del cese de la inmunosupresión: fecha del cese de cada fármaco.
- Datos del paciente en el último seguimiento: vivo/muerto, estado de la enfermedad en último seguimiento (remisión completa, remisión parcial, en progresión). Fecha del último seguimiento. Causa de exitus (si procede). Necropsia (sí/no).

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- La supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad fueron comparadas con el log-rank test y las curvas de estas variables fueron trazadas empleando el método Kaplan-Meier.
 - Los valores para las variables categóricas fueron analizados mediante el test χ^2 para comparar las características de los dos grupos de trasplante.
 - Los valores fueron considerados significativos con un valor “p” inferior a 0.005.
 - Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el programa IBM SPSS Statistics 21.
-

6 RESULTADOS

Se analiza una muestra de 55 pacientes trasplantados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) entre los años 2012 y 2016. De estos, 30 pacientes fueron sometidos a un trasplante haploidéntico familiar y los 25 restantes a un trasplante de donante no relacionado con disparidad en HLA.

En los pacientes con trasplante *mismatch*, la inmunosupresión se basó en el uso de gammaglobulina antitimocítica ATG Fresenius a una dosis total de 21 mg/kg fraccionada en tres días (desde el día -3 hasta el día-1), seguida a partir del día +1 post-trasplante de un inhibidor de calcineurina (tacrolimus /ciclosporina) asociado con metrotrexate en pauta corta o micofenolato. Por el contrario, en el trasplante haploidéntico la inmunosupresión se basó en el uso de ciclofosfamida a altas dosis (50 mg/kg) en los días +3 y +4 post-trasplante seguido a partir del día +5 de tacrolimus y micofenolato. En este grupo de trasplante se empleó G-CSF de forma habitual hasta el prendimiento.

En los trasplantes de donante no relacionado *mismatch*, la reducción de la terapia inmunosupresora se realizó en general a partir del día +80 post-trasplante, siempre que no presentaran EICH agudo. En los trasplantes haploidénticos, el micofenolato se suspendió precozmente (día +28) y se comenzó una pauta descendente de tacrolimus a partir del día +50 en caso de que no hubiera EICH, con objeto de suspenderlo en torno al día +130 post-trasplante. En ambos casos, la inmunosupresión se prolongaba en caso de que apareciese EICH.

La profilaxis anti-neumocistis se realizó con cotrimoxazol con una pauta de dos veces por semana a partir del implante, considerándose el uso de pentamidina inhalada mensual si éste no era suficiente. En todos los pacientes trasplantados independientemente del tipo de trasplante que les fue realizado se monitorizó la aparición de infección por citomegalovirus al menos una vez por semana desde el prendimiento, mientras que en la mayoría de los *mismatch* se realizó también una determinación del virus de Epstein Barr (EBV) en los primeros 100 días. En ninguno de los grupos se empleó profilaxis antimicrobiana durante el periodo de aplasia según la práctica habitual del centro, realizándose mayoritariamente profilaxis antifúngica con fluconazol en el primer pico febril.

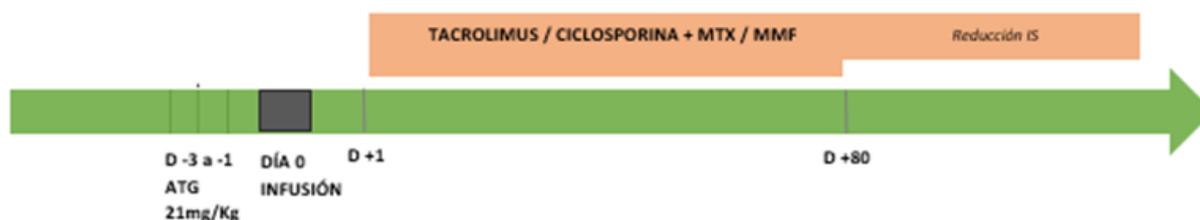


Figura 5. Esquema de inmunosupresión para el trasplante de donante no relacionado con disparidad en el HLA.

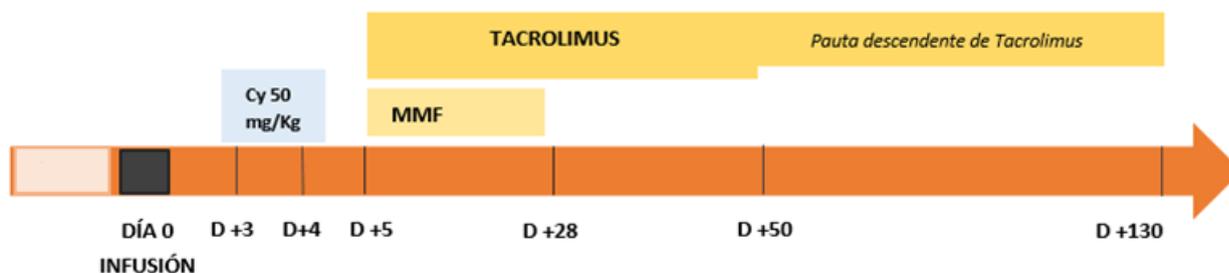


Figura 6. Esquema de inmunosupresión para el trasplante haploidéntico familiar.

Ambos grupos no ofrecían diferencias significativas considerando edad al trasplante, sexo, enfermedad hematológica, estado de la enfermedad al trasplante, trasplante autólogo previo e índice de riesgo de la enfermedad para recaída (DRI) (Ver tabla 1).

Sin embargo, presentaban diferencias significativas en relación con el acondicionamiento empleado, la profilaxis frente a EICH, la fuente de progenitores empleada y el *HCT-CI score* previo al trasplante.

El acondicionamiento empleado fue ablativo en el 92% de los trasplantes *mismatch*, mientras que en los trasplantes haploidénticos fue del 30% ($p=0.00$). La profilaxis frente a EICH se realizó con tacrolimus y micofenolato en el 100% de los trasplantes haploidénticos, mientras que en el grupo de trasplantes *mismatch* la recibieron el 64% de los pacientes, empleándose otras combinaciones farmacológicas en el resto de pacientes de ese grupo ($p=0.005$).

En cuanto a la fuente de progenitores hematopoyéticos empleada también se observaron diferencias significativas, siendo en el grupo del trasplante haploidéntico utilizada principalmente médula ósea (83.3%), al contrario que en el grupo *mismatch* (48%) ($p=0.05$). El índice de comorbilidad pre-trasplante (*HCT-CI score*) era mayor o igual a 3 en el 76.7% de los que recibieron trasplante haploidéntico, mientras que en el grupo *mismatch* era del 40% ($p=0.016$).

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes en función del tipo de trasplante.

	MISMATCH		HAPLOIDÉNTICO		P value
	N	%	N	%	
Número	25		30		
Edad, mediana (rango)	53 (6-68)		48 (24-74)		0.84
Sexo femenino	11	44	13	43.3	0.96
Acondicionamiento					
- Ablativo	23	92	9	30	0.00
- Intensidad reducida	2	8	21	70	
Profilaxis EICH					
- Tacrólimus+MMF	16	64	30	100	0.005
- Tacrólimus+MTX	6	24			
- Ciclosporina+MMF	1	4			
- Ciclosporina+MTX	2	8			
Enfermedad					
- LMA	8	32	14	46.7	0.1
- LLA	3	12	1	3.3	
- SMD	6	24	2	6.7	
- LNH	2	8	2	6.7	
- EH	1	4	8	26.7	
- Otros	5	20	3	10	
Status enfermedad					
- 1 RC	12	48	16	53.3	0.51
- 2 RC	4	16	2	6.7	
- ≥3 RC	0	0	2	6.7	
- RP	5	20	7	23.3	
- Refractario	4	16	3	10	
Trasplante autólogo previo					
- Sí	2	8	8	26.7	0.07
- No	23	92	22	73.3	
Fuente de progenitores					
- Médula ósea	12	48	25	83.3	0.05
- Sangre periférica	13	52	5	16.7	
DRI					
- Bajo	1	4	4	13.3	0.47
- Intermedio	15	60	16	53.3	
- Alto	6	24	9	30	
- Muy alto	0	0	0	0	
- No evaluable	3	12	1	3.3	
HCT-TI score					
- 0	2	8	2	6.7	0.016
- 1-2	13	52	5	16.7	
- ≥3	10	40	23	76.7	

6.1 SUPERVIVENCIA GLOBAL, SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD E INCIDENCIA DE RECAÍDA

Con una mediana de seguimiento de 15 meses (rango 0-59) la supervivencia global estimada a los 12 meses fue del 69% en el trasplante haploidéntico y del 60% en el trasplante *mismatch*, no siendo un resultado estadísticamente significativo ($p=0.51$). La supervivencia libre de enfermedad en este mismo periodo de tiempo fue del 65% para el trasplante haploidéntico familiar y del 56% para el *mismatch*, no alcanzando tampoco significación estadística ($p=0.53$).

	TIPO_TPH	HAPLO		MISSMATCH	
		Chi-cuadrado	Sig.	Chi-cuadrado	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	HAPLO				
	MISSMATCH	,442	,506	,442	,506

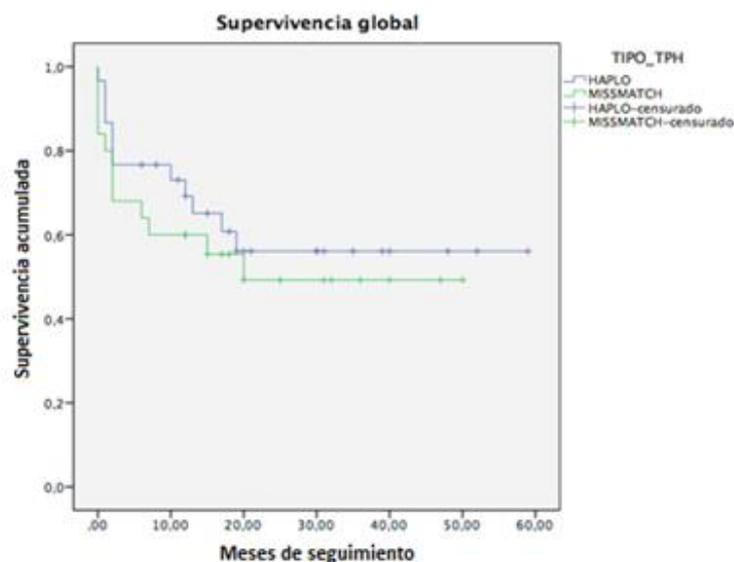


Gráfico 1. Supervivencia global en ambos grupos.

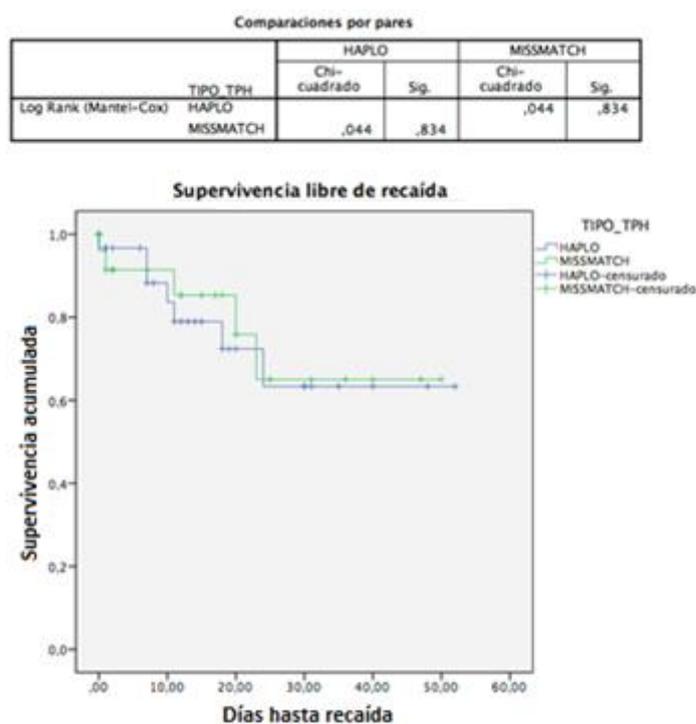


Gráfico 2. Supervivencia libre de recaída en ambos grupos.

La incidencia acumulada de recaída en el grupo que recibió un trasplante haploidéntico familiar fue del 21%, mientras que en el grupo de pacientes que recibieron un trasplante *mismatch* fue del 14%, no tratándose de una diferencia significativa ($p=0.83$). En cuanto al status de la enfermedad en que se encontraban los pacientes en el momento del trasplante, de aquellos sometidos a trasplante haploidéntico familiar el 57.1% se encontraba en primera remisión completa y el 42.9% en remisión parcial. En el grupo de los pacientes sometidos a un trasplante de donante no relacionado con disparidad en HLA, un 40% se encontraba en primera remisión completa, otro 40% en segunda remisión completa y el 20% restante en remisión parcial.

6.2 FALLO DE IMPLANTE Y EICH

En el grupo de los pacientes que recibieron un trasplante haploidéntico familiar no se ha registrado ningún fallo de implante primario, mientras que se han registrado dos fallos de implante secundario (6.7%). Asimismo, entre los pacientes sometidos a un trasplante de donante no relacionado con disparidad en HLA se registraron 5 fallos de implante, lo que supone el 20% de este grupo. De estos 5 fallos de implante, 2 fueron primarios (8%) y los 3 restantes secundarios (12%).

Se analizó la incidencia de EICH en ambos grupos, distinguiendo entre EICHa y EICHc. Fueron valorables para EICHa todos los pacientes del grupo haploidéntico y 23 de los 25 pacientes del grupo *mismatch*. La presencia de EICHa fue demostrada en 10 pacientes de los sometidos a

trasplante haploidéntico familiar (33.3%), mientras que en el grupo de pacientes que recibieron trasplante de donante no emparentado con disparidad en HLA fue registrada en 12 pacientes (48%). En relación con la gravedad de la EICH, se dividió en moderada (grados II/IV) y grave (grados III/IV). Aquellos pacientes sometidos a un trasplante haploidéntico familiar presentaron menores tasas de enfermedad grado II/IV que los sometidos a un trasplante *mismatch* (33% vs 52%, $p=0.17$), existiendo diferencias significativas en las formas graves de EICHa (26% vs 6.7%, $p=0.05$).

Por otro lado, fueron valorables para EICHc 23 de los 30 pacientes del grupo haploidéntico y 18 de 25 del grupo *mismatch*. Presentaron la enfermedad el 50% de los pacientes sometidos al trasplante haploidéntico y el 32% de los pacientes sometidos al trasplante *mismatch*. En cuanto a los grados de gravedad en el EICHc, se clasificaron como leve, moderado o grave según la escala NIH para EICHc. En el grupo de los trasplantes haploidénticos se registraron 7 de grado leve (30.4%) y 6 de grado moderado (26.1%), mientras que en el grupo *mismatch* se registraron 2 de grado leve (11.1%) y 1 de grado moderado (5.6%), no alcanzando estas variables significación estadística. Sin embargo, sí se alcanzan en el grado grave de la enfermedad. Presentaron EICHc grave 2 pacientes sometidos a trasplante haploidéntico (8.7%) frente a 5 en el grupo *mismatch* (27.8%), $p=0.01$.

6.3 MORTALIDAD RELACIONADA CON EL PROCEDIMIENTO Y PRINCIPALES CAUSAS DE MORTALIDAD EN AMBOS GRUPOS

Se analizó la incidencia de exitus en ambos grupos, así como las causas de los mismos. En el grupo de los pacientes sometidos a un trasplante haploidéntico familiar hubo 12 fallecidos (40%), mientras que en el grupo de pacientes que recibieron el trasplante de un donante no emparentado con disparidad en HLA se registraron 15 (53.6%).

En cuanto a las causas de mortalidad, se analizaron dividiéndolas en dos grupos principales: mortalidad por recaída/progresión de la enfermedad y mortalidad relacionada con el procedimiento. En el grupo de pacientes que recibieron trasplante haploidéntico, fallecieron por recaída/progresión 4 pacientes (13.3%), mientras que 7 pacientes (24%) fallecieron a causa de la toxicidad relacionada con el procedimiento. En el otro grupo de pacientes, fallecieron por recaída/progresión de la enfermedad 4 pacientes (16%), mientras que 8 fallecieron por toxicidad relacionada con el procedimiento (33%), sin alcanzar estos datos significación estadística ($p=0.59$). Estos datos indican que el grupo *mismatch* tiende a presentar una mortalidad mayor relacionada con el procedimiento que el grupo haploidéntico. La mortalidad a los 100 días fue mayor en el grupo *mismatch* (29% vs 20%), al igual que ocurre con la mortalidad al año (33% vs 24%, $p=0.59$).

	TIPO_TPH	HAPLO		MISSMATCH	
		Chi-cuadrado	Sig.	Chi-cuadrado	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	HAPLO			,148	,701
	MISSMATCH	,148	,701		

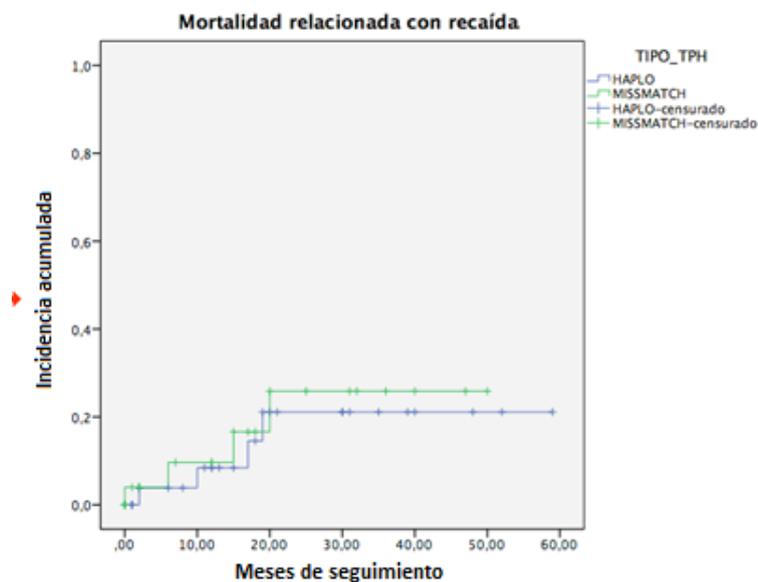


Gráfico 3. Mortalidad relacionada con la recaída/progresión de la enfermedad.

	TIPO_TPH	HAPLO		MISSMATCH	
		Chi-cuadrado	Sig.	Chi-cuadrado	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	HAPLO			,288	,592
	MISSMATCH	,288	,592		

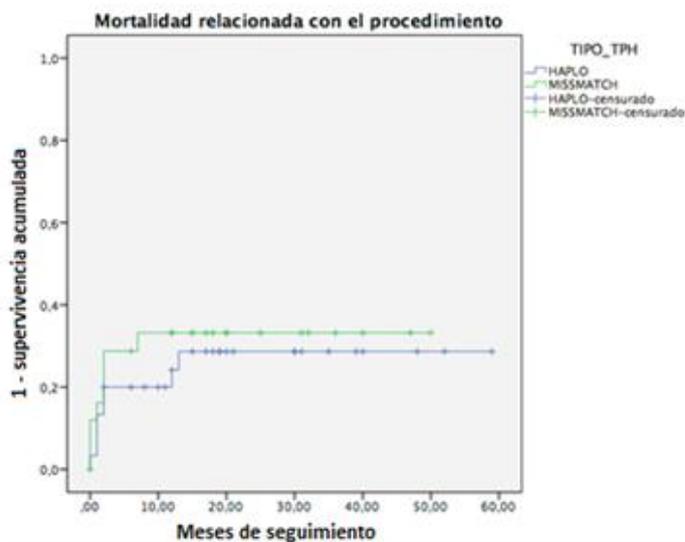


Gráfico 4. Mortalidad relacionada con el procedimiento

7 DISCUSIÓN

La hipótesis con la que fue concebido este estudio trataba de demostrar una superioridad en cuanto a la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en aquellos enfermos sometidos a un trasplante alogénico de tipo haploidéntico familiar frente a aquellos que recibían el trasplante de un donante no emparentado con disparidad en HLA. Este resultado se esperaba que estuviera condicionado principalmente por las diferentes pautas de inmunosupresión que reciben estos dos grupos de pacientes, pudiendo plantearse, en caso de observar grandes diferencias, ciertas modificaciones que conlleven una disminución de la toxicidad y, en consecuencia, un incremento en la supervivencia.

Sin embargo, en contra de la hipótesis de partida y tras el análisis estadístico de las variables utilizadas en ambos grupos, no se han hallado prácticamente diferencias en la supervivencia global ni en la supervivencia libre de enfermedad entre ambos grupos, siendo bastante similares entre sí. No obstante, pese a los resultados obtenidos en este estudio, no se puede descartar la hipótesis de partida ya que la muestra no tiene el suficiente número de pacientes como para que estos resultados sean estadísticamente significativos ($p=0.51$).

Con todo, a pesar de no haber podido demostrar la hipótesis, son destacables las tasas de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad logradas en el grupo *mismatch*, siendo mayores que las descritas habitualmente en la literatura médica⁶³ [*Ho VT et al. HLA-C mismatch is associated with inferior survival after unrelated donor non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation.*], lo que indicaría que el manejo de estos pacientes y la inmunosupresión utilizada en el servicio de hematología en el HUMV es ampliamente eficaz.

Sin embargo, los pacientes que recaen son similares en ambos grupos a pesar de que en el trasplante *mismatch* se incluyeron regímenes de acondicionamiento más agresivos (ablativos) que, a priori, podrían traducirse en un mejor control de la enfermedad. No obstante, la tasa de recaídas es baja en comparación con el estado actual de la literatura médica para trasplante haploidéntico familiar⁶⁴ [*Luznik L. et al. Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical BMT*] y trasplante de donante no emparentado con disparidad en HLA⁶⁵ [*Morishima Y, et al. Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation.*], lo que parece indicar que la estrategia seguida en este centro de reducción acelerada de la inmunosupresión en trasplantes haploidénticos y de reducción de dosis de ATG en trasplantes *mismatch* puede ser un camino eficaz.

La incidencia de EICHa así como su graduación según gravedad ha sido muy similar en ambos grupos. Sin embargo, en la EICHc sí se han encontrado diferencias, tanto en la incidencia como en la gravedad de la misma. Analizando a los pacientes valorables para esta enfermedad, la incidencia de EICHc ha sido mayor en el grupo de pacientes que recibieron un trasplante haploidéntico familiar frente a los que lo recibieron de un donante no relacionado dispar. No obstante, a pesar de presentar una mayor incidencia, los pacientes del grupo haploidéntico sufrían la enfermedad en un grado más leve, mientras que los pacientes del grupo *mismatch* presentaron significativamente un mayor porcentaje de casos graves de EICHc.

Por último, la variable de la mortalidad es la que ha arrojado unos resultados más sorprendentes. Mientras que se esperaba obtener una supervivencia más elevada en el grupo de los pacientes con trasplante haploidéntico, la mortalidad se preveía que fuera mayor en los pacientes que

recibieron el trasplante de un donante no relacionado con disparidad en HLA. Sin embargo, de nuevo los resultados obtenidos están muy ajustados entre ambos grupos por lo que, a pesar de no ser significativos ($p=0.592$), parecen indicar que en el HUMV se están consiguiendo resultados relativamente exitosos en lo que se refiere al trasplante de donantes alternativos.

8 CONCLUSIÓN

A pesar de que el estudio no es significativo estadísticamente debido al pequeño tamaño de la muestra seleccionada, todos los datos parecen indicar que tanto la supervivencia global como la supervivencia libre de enfermedad son muy similares en ambos grupos, por lo que, a falta de estudios posteriores, actualmente no estaría justificado el uso de ciclofosfamida post-trasplante en aquellos pacientes que reciben un trasplante con disparidad en HLA de un donante no emparentado, especialmente en casos con bajo conflicto antigénico.

Además, la toxicidad relacionada con el procedimiento parece ser mayor en este grupo, ya que presentan, entre otros, un mayor porcentaje de fallos de implante y de casos graves de EICH, a pesar de partir de una morbilidad previa al trasplante más baja que el grupo haploidéntico.

Por último, el análisis de la mortalidad global aunque no alcanza significación estadística parece inclinarse positivamente hacia el grupo de los que recibieron un trasplante haploidéntico familiar.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. Jacobson, L.O., Marks, E.K., Robson, M.J., Gaston, E.O. & Zirkle, R.E. Effect of spleen protection on mortality following x-irradiation. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, (1949)34, 1538–1543.
 2. Lorenz, E., Uphoff, D., Reid, T.R. & Shelton, E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *Journal of the National Cancer Institute* (1951), 12, 197–201.
 3. Barnes, D.W.H. & Loutit, J.F. What is the recovery factor in spleen? *Nucleonics* (1954), 12, 68–71.
 4. Main, J.M. & Prehn, R.T. Successful skin homografts after the administration of high dosage X-radiation and homologous bone marrow. *Journal of the National Cancer Institute* (1955), 15, 1023–1029.
 5. Ford, C.E., Hamerton, J.L., Barnes, D.W.H. & Loutit, J.F. Cytological identification of radiation-chimaeras. *Nature* (1956), 177, 452–454.
 6. Nowell, P.C., Cole, L.J., Habermeyer, J.G. & Roan, P.L. Growth and continued function of rat marrow cells in x-radiated mice. *Cancer Research* (1956), 16, 258–261.
 7. Thomas, E.D., Lochte, H.L., Jr, Lu, W.C. & Ferrebee, J.W. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *New England Journal of Medicine* (1957), 257, 491–496.
 8. Bortin, M.M. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation* (1970), 9, 571–587.
 9. Mathe, G., Amiel, J.L., Schwarzenberg, L., Catton, A. & Schneider, M. Adoptive immunotherapy of acute leukemia: experimental and clinical results. *Cancer Research* (1965), 25, 1525–1531.
 10. Santos, G.W. & Owens, A.H., Jr. Allogeneic marrow in cyclophosphamide treated mice. *Transplantation Proceedings* (1969), 1, 44–46.
 11. Gatti, R.A., Meuwissen, H.J., Allen, H.D., Hong, R. & Good, R.A. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* (1968), II, 1366–1369.
 12. Buckner, C.D., Epstein, R.B., Rudolph, R.H., Clift, R.A., Storb, R. & Thomas, E.D. Allogeneic marrow engraftment following whole body irradiation in a patient with leukemia. *Blood* (1970), 35, 741–750.
 13. Thomas, E.D., Buckner, C.D., Banaji, M., Clift, R.A., Fefer, A., Flournoy, et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood* (1977a), 49, 511–533.
 14. Thomas, E.D., Flournoy, N., Buckner, C.D., Clift, R.A., Fefer, A., Neiman, P.E. & Storb, R. Cure of leukemia by marrow transplantation. *Leukemia Research* (1977b), 1, 67–70.
-

-
15. Thomas, E.D., Blume, K.G. & Forman, S.J. *Hematopoietic Cell Transplantation* (1999), 2nd ed, Blackwell Science, Boston.
 16. Fefer, A., Buckner, C.D., Clift, R.A., Fass, L., Lerner, K.G., Mickelson, E.M., Neiman, P., Rudolph, R., Storb, R. & Thomas, E.D. Marrow grafting in identical twins with hematologic malignancies. *Transplantation Proceedings* (1973),5, 927–931.
 17. Clift, R.A., Buckner, C.D., Thomas, E.D., Doney, K., Fefer, A., Neiman, P.E., Singer, J., Sanders, J., Stewart, P., Sullivan, K.M., Deeg, J. & Storb, R. Treatment of chronic granulocytic leukaemia in chronic phase by allogeneic marrow transplantation. *Lancet* (1982), II, 621–623.
 18. Thomas, E.D., Buckner, C.D., Storb, R., Neiman, P.E., Fefer, A., Clift, R.A., Slichter, S.J., Funk, D.D., Bryant, J.I. & Lerner, K.G. Aplastic anaemia treated by marrow transplantation. *Lancet* (1972), I, 284–289.
 19. Storb, R., Thomas, E.D., Buckner, C.D., Clift, R.A., Johnson, F.L., Fefer, A., Glucksberg, H., Giblett, E.R., Lerner, K.G. & Neiman, P. Allogeneic marrow grafting for treatment of aplastic anemia. *Blood* (1974), 43, 157–180.
 20. Storb, R., Etzioni, R., Anasetti, C., Appelbaum, F.R., Buckner, C.D., Bensinger, W., et al. Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia. *Blood* (1994), 84, 941–949.
 21. Thomas, E.D., Buckner, C.D., Sanders, J.E., Papayannopoulou, T., Borgna-Pignatti, C., De Stefano, P., Sullivan, K.M., Clift, R.A. & Storb, R. Marrow transplantation for thalassaemia. *Lancet* (1982a), II, 227–229.
 22. Lucarelli, G., Polchi, P., Izzi, T., Manna, M., Agostinelli, F., Delfini, C., Porcellini, A., et al. Allogeneic marrow transplantation for thalassemia. *Experimental Hematology* (1984), 12, 676–681.
 23. Johnson, F.L., Look, A.T., Gockerman, J., Ruggiero, M.R., DallaPozza, L. & Billings, F.T., III. Bone-marrow transplantation in a patient with sickle-cell anemia. *New England Journal of Medicine* (1984), 311, 780–783.
 24. Muro Amador, Manuel. Tipificación genómica HLA de alta resolución y aplicaciones en trasplante de progenitores hematopoyéticos. *Revista Eubacteria* (2012) 28, 1-4.
 25. Erlich. HLA DNA typing: past, present, and future. *Tissue Antigens* (2012), vol. 80, no. 1, pp. 1–11.
 26. J. R. Argüello and J. A. Madrigal. HLA typing by Reference Strand Mediated Conformation Analysis (RSCA). *Reviews in immunogenetics* (1999), vol. 1, no. 2, pp. 209–219.
 27. I. Yakoub-Agha, F. Mesnil, M. Kuentz et al. Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocyte antigen identical siblings versus human leukocyte antigen-allelic matched unrelated donors (10/10) in patients with standard risk hematologic malignancy: a prospective study from then French society of bone marrow transplantation and cell therapy. *Journal of Clinical Oncology* (2006), vol. 24, no. 36, pp. 5695– 5702.
-

-
28. M. Park, K.N. Koh, B.E. Kim et al. The impact of HLA matching on unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in Korean children. *Korean Journal of Hematology* (2011), vol. 46, no. 1, pp. 11–17.
29. E. W. Petersdorf, J. A. Hansen, P. J. Martin et al. Major histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *New England Journal of Medicine* (2001), vol. 345, no. 25, pp. 1794–1800.
30. Y. Morishima, T. Sasazuki, H. Inoko et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood* (2002), vol. 99, no. 11, pp. 4200–4206.
31. T. Sasazuki, T. Juji, Y. Morishima et al. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. *New England Journal of Medicine* (1998), vol. 339, no. 17, pp. 1177–1185.
32. E. W. Petersdorf, T. A. Gooley, C. Anasetti 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), vol. 92, no. 10, pp. 3515–3520.
33. E. W. Petersdorf, C. Kollman, C. K. Hurley et al. Effect of HLA class II gene disparity on clinical outcome in unrelated donor hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia: the US National Marrow Donor Program experience. *Blood* (2001), vol. 98, no. 10, pp. 2922–2929.
34. R. Crocchiolo, E. Zino, L. Vago et al. Non-permissive HLADPB1 disparity is a significant independent risk factor for mortality after unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* (2009), vol. 114, no. 7, pp. 1437–1444.
35. E. Zino, G. Frumento, S. Markt et al. A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines non-permissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. *Blood* (2004), vol. 103, no. 4, pp. 1417–1424.
36. M. Schaffer, A. Aldener-Cannava, M. Remberger, O. Ringden, and O. Olerup. Roles of HLA-B, HLA-C and HLA-DPA1 incompatibilities in the outcome of unrelated stem-cell transplantation. *Tissue Antigens* (2003), vol. 62, no. 3, pp. 243–250.
37. E. W. Petersdorf, C. Anasetti, P. J. Martin et al. Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation. *Blood* (2004), vol. 104, no. 9, pp. 2976–2980.
38. R. Crocchiolo, F. Ciceri, K. Fleischhauer et al. HLA matching affects clinical outcome of adult patients undergoing haematopoietic SCT from unrelated donors: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo and Italian Bone Marrow Donor Registry. *Bone Marrow Transplantation* (2009), vol. 44, no. 9, pp. 571–577.
39. E. J. Lowe, V. Turner, R. Handgretinger et al. T-cell alloreactivity dominates natural killer cell alloreactivity in minimally T-cell-depleted HLA-non-identical paediatric bone marrow transplantation. *British Journal of Haematology* (2003), vol. 123, no. 2, pp. 323–326.
40. S. Giebel, F. Locatelli, T. Lamparelli et al. Survival advantage with KIR ligand incompatibility in
-

hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Blood* (2003), vol. 102, no. 3, pp. 814–819.

41. L. Ruggeri, M. Capanni, E. Urbani et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* (2002), vol. 295, no. 5562, pp. 2097–2100.

42. H. T. Greinix, I. Faé, B. Schneider et al. Impact of HLA class I high-resolution mismatches on chronic graft-versus-host disease and survival of patients given hematopoietic stem cell grafts from unrelated donors. *Bone Marrow Transplantation* (2005), vol. 35, no. 1, pp. 57–62.

43. S. J. Lee, J. Klein, M. Haagenson et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood* (2007), vol. 110, no. 13, pp. 4576–4583.

44. N. Flomenberg, L. A. Baxter-Lowe, D. Confer et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* (2004), vol. 104, no. 7, pp. 1923–1930.

45. Hurley CK, Woolfrey A, Wang T, et al. The impact of HLA unidirectional mismatches on the outcome of myeloablative hematopoietic stem cell transplantation with unrelated donors. *Blood* (2013); 121:4800-6.

46. Anasetti C, Hansen JA. Effect of HLA incompatibility in marrow transplantation from unrelated and HLA-mismatched related donors. *Transfus Sci.* (1994); 15:221-30.

47. Fernández-Vina MA, Klein JP, Haagenson M, et al. Multiple mismatches at the low expression HLA loci DP, DQ, and DRB3/4/5 associate with adverse outcomes in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* (2013); 121:4603-10.

48. Kollman C, Spellman S, Zhang M, et al. The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy. *Blood* (2016); 127:260-7.

49. Fleischhauer K, Shaw BE, Gooley T, et al. Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol.* (2012); 13:366-74.

50. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* (1990); 75:555-62.

51. Shaw BE, Mayor NP, Russell NH, et al. Diverging effects of HLA-DPB1 mismatching status on outcome following unrelated donor transplantation depending on disease stage and the degree of matching for other HLA alleles. *Leukemia* (2010); 24:58-65.

52. Apps R, Qi Y, Carlson JM, et al. Influence of HLA-C expression level on HIV control. *Science* (2013); 340:87-91

53. Thomas R, Thio CL, Apps R, et al. A novel variant marking HLA-DP expression levels predicts recovery from hepatitis B virus infection. *J Virol.* (2012); 86:6979-85.

-
54. Morishima Y, Kashiwase K, Matsuo K, et al. Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. *Blood* (2015); 125:1189-97.
55. Demirer T, Petersen FB, Appelbaum FR, et al. Allogeneic marrow transplantation following cyclophosphamide and escalating doses of hyperfractionated total body irradiation in patients with advanced lymphoid malignancies: A Phase I/II trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* (1995); 32(4):1103-1109.
56. Tutschka PJ, Copelan EA, Klein JP. Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. *Blood* (1987); 70(5):1382-1388.
57. Childs R, Clave E, Contentin N, et al. Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. *Blood* (1999); 94(9):3234-3241.
58. E. J. Fuchs. Haploidentical transplantation for hematologic malignancies: where do we stand? *ASH Education Book*, (2012), no.1, pp.230–236, 2012.
59. F. Patriarca, L. Luznik, M. Medeot et al. Experts' considerations on HLA-haploidentical stem cell transplantation. *European Journal of Haematology* (2014), vol.93, no.3, pp.187–197.
60. C. Anasetti, D. Amos, P. G. Beatty et al. Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *The New England Journal of Medicine* (1989), vol.320, no.4, pp.197–204.
61. P.G. Beatty, R.A. Clift, E.M. Mickelson et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *The New England Journal of Medicine* (1985), vol. 313, no. 13, pp. 765–771.
62. J. R. Passweg, H. Baldomero, P. Bader et al. Hematopoietic SCT in Europe 2013: recent trends in the use of alternative donors showing more haploidentical donors but fewer cord blood transplants. *Bone Marrow Transplant* (2015), vol.50, no. 4, pp. 476–482.
63. Ho VT, Kim HT, Liney D et al. HLA-C mismatch is associated with inferior survival after unrelated donor non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2006; 37(9): 845-50.
64. Luznik L. et al. Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical BMT. *Semin Oncol.* 2012; 39(6).
65. Morishima Y, et al. Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. *Blood* 2015; vol 125, n7.
-