

TESIS DOCTORAL

**FOTOFÉRESIS EXTRACORPÓREA
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS**

María Guillén Gómez

Madrid, 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA**

**FOTOFÉRESIS EXTRACORPÓREA
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS**

DIRIGIDA POR:

- Dra. Marta González-Vicent
- Dr. Luis Madero López

TESIS DOCTORAL

María Guillén Gómez

Madrid, 2015

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a todas las personas que de una u otra manera me han ayudado a que este proyecto haya llegado a su fin. Es posible que me olvide de algunos y les pido de antemano mis disculpas, pues no es un olvido intencionado.

A lo pacientes con enfermedad injerto contra huésped y a todos los que luchan a diario, por saber algo más de esta patología y mejorar su calidad de vida.

A mi familia y a todos los que me aprecian.

ÍNDICE (página)

- I. Introducción (1)
 1. Fotoféresis extracorpórea: inicio, mecanismo de acción, aspectos técnicos e indicaciones (3)
 - 1.1 Inicio (3)
 - 1.2 Mecanismo de acción de la fotoféresis extracorpórea (4)
 - 1.2.1 ¿Qué ocurre durante el procedimiento de aféresis? (4)
 - 1.2.2 ¿Cómo actúa el psoraleno? (5)
 - 1.2.3 ¿Qué ocurre al reinfundir al paciente el producto tratado? (5)
 - 1.3 Aspectos técnicos del procedimiento de aféresis (6)
 - 1.3.1 Métodos de realización de fotoféresis extracorpórea (6)
 - 1.3.2 Accesos vasculares (8)
 - 1.3.3 Efectos secundarios durante la realización de la aféresis (8)
 - 1.4 Indicaciones de la fotoféresis extracorpórea (9)
 2. Fotoféresis extracorpórea en la enfermedad injerto contra huésped (11)
 - 2.1 ¿Qué es la enfermedad injerto contra huésped? (11)
 - 2.2 Fotoféresis extracorpórea en la enfermedad injerto contra huésped (17)
 - 2.2.1 Fotoféresis extracorpórea en la enfermedad injerto contra huésped aguda (20)
 - 2.2.2 Fotoféresis extracorpórea en la enfermedad injerto contra huésped crónica (21)
 - 2.3 Calidad de vida en los pacientes en tratamiento con fotoféresis extracorpórea (22)
 - 2.4 Fotoféresis extracorpórea como profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (22)
 - 2.5 Evaluación de los pacientes con enfermedad injerto contra huésped antes de iniciar tratamiento con fotoféresis extracorpórea (22)
 - 2.6 Recomendaciones para la realización de fotoféresis extracorpórea (22)
 - 2.7 Esquema de tratamiento de los pacientes con enfermedad injerto contra huésped en tratamiento con fotoféresis extracorpórea (23)
 - 2.8 Efectos adversos del tratamiento con fotoféresis extracorpórea en pacientes con enfermedad injerto contra huésped (23)

2.9 Parámetros de seguridad en pacientes con enfermedad injerto contra huésped tras fotoféresis extracorpórea (24)

3. Fotoféresis extracorpórea en pediatría (25)

3.1 Aspectos técnicos del procedimiento de aféresis en pediatría (25)

- 3.1.1 Acceso vascular (25)
- 3.1.2 Anticoagulación (27)
- 3.1.3 Volumen extracorpóreo y cebado del equipo (27)
- 3.1.4 Hipotermia (28)
- 3.1.5 Unidad de aféresis (28)

3.2 Indicaciones de fotoféresis extracorpórea en pediatría (28)

4. Fotoféresis extracorpórea en el paciente pediátrico con enfermedad injerto contra huésped. (30)

4.1 Indicaciones del tratamiento con fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped (30)

- 4.1.1 Fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped aguda (30)
- 4.1.2 Fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped crónica (32)

4.2 Calidad de vida en los pacientes pediátricos en tratamiento con fotoféresis extracorpórea (33)

4.3 Fotoféresis extracorpórea como profilaxis en pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped (33)

4.4 Evaluación de los pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped previa a la introducción de un programa de fotoféresis extracorpórea (34)

4.5 Recomendaciones para la realización de fotoféresis extracorpórea en pediatría (34)

4.6 Esquema de tratamiento de los pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped en tratamiento con fotoféresis extracorpórea (34)

4.7 Efectos adversos del tratamiento con fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped (36)

4.8 Parámetros para monitorizar la respuesta en pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped tras tratamiento con fotoféresis extracorpórea (36)

II. Hipótesis de trabajo del estudio de fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos (39)

III. Objetivos (43)

IV. Pacientes y métodos (47)

1. Estudio de la seguridad: Evaluación de los efectos adversos relacionados con la colecta (49)

1.1 Características demográficas (49)

1.2 Efectos adversos durante la colecta (50)

1.2.1 Dependientes del sujeto (50)

1.2.2. Dependientes del procedimiento (50)

1.2.3 Dependientes del separador celular empleado (51)

2. Estudio de la eficiencia: Evaluación de las variables relacionadas con la colecta (51)

2.1 Características demográficas (51)

2.2 Variables relacionadas con la colecta (51)

2.2.1 Estudios preaféresis al paciente (51)

2.2.2 Dependientes del procedimiento (51)

2.2.3 Estudios del producto de aféresis (51)

3. Estudios de la eficacia: Evaluación de la respuesta clínica del paciente (52)

3.1 Características demográficas (52)

3.1.1 Pacientes (52)

3.1.2 Criterios de inclusión y de exclusión (52)

3.1.3 Esquema de tratamiento con fotoféresis extracorpórea (53)

3.2. Evaluación de la respuesta clínica del paciente (53)

3.2.1 Dependientes del sujeto (53)

3.2.2 Dependientes del donante (53)

3.2.3 Dependientes del procedimiento (53)

3.2.4 dependientes del producto infundido (54)

3.2.5 Dependientes del separador celular empleado (54)

3.2.6 Dependientes de la dosis de esteroides antes y después del tratamiento con fotoféresis extracorpórea (54)

4. Protocolo de fotoféresis extracorpórea en el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (54)
5. Análisis estadístico (56)
6. Consentimientos informados (56)

- V. Resultados (57)

- VI. Discusión (79)

- VII. Conclusiones (87)

- VIII. Anexos (91)

- IX. Bibliografía (99)

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

A

ACD-A: ácido cítrico anhidro, citrato trisódico dihidrato, dextrosa monohidrato
ADN: ácido desoxirribonucleico
AHA1: anemia hemolítica autoinmune
ASFA: Sociedad Americana de Aféresis (American Society for Apheresis)
ATG: inmunoglobulina antitimocítica

B

BCSH/BSBMT: Comité Británico de Estándares en Hematología/ Sociedad Británica de Trasplante de Médula Ósea (British Committee for Standards in Hematology/British Society for Blood and Marrow Trasplantation)

C

CA: separador celular Cobe Spectra modo automático AutoPBSC
CCR7: receptor de quimioquina tipo 7
CD: células dendríticas
CD1: células dendríticas monocitoides
CD2: células dendríticas plasmocitoides
CD4: linfocitos CD4
CD4 CM: linfocitos CD4 con memoria central
CD4 EM: linfocitos CD4 con memoria efectora
CD4 TT: linfocitos CD4 efector terminal
cm: centímetros
cm²: centímetro cuadrado
cm³: centímetro cúbico
CM: separador celular Cobe Spectra modo manual
CMN: células mononucleadas
CsA: ciclosporina A
CPA: células presentadoras de antígenos
CVC: catéter venoso central
°C: grados centígrados

D

D: donante
dl: decilitro
DLCO: capacidad de difusión
DPL3/19: depleción CD3/CD19
DPL α/β : depleción α/β

E

EDTA: etilendiaminotetracetato
EICH: enfermedad injerto contra huésped
EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda
EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica

F

FEC: Fotoféresis extracorpórea
FEV1: volumen espiratorio forzado en 1 segundo
Fr: French

G

g: gramo
G-CSF: factor estimulador de las colonias de granulocitos
GI: gastrointestinal
GITMO: Grupo Italiano de trasplante de Medula Ósea

H

Hb: hemoglobina
HLA: antígeno leucocitario humano (Human Leukocyte Antigen)
HTA: hipertensión arterial
Hto: hematocrito

I

IBMTR: Registro Internacional de Trasplantes de Médula Ósea (International Bone Marrow Trasplant Registry)
IL-1, IL-4, IL-10: interleuquina -1, -4, -10
INF- γ : interferón gamma
iv: intravenosa

J

J: julios

K

Kg: kilogramo de peso

L

L: litro
LLA: leucemia linfoblástica aguda
LMA: leucemia mieloblástica aguda
LNH: linfoma no Hodgkin
lpm: latido por minuto
LT: linfocito T
LTreg: linfocitos T reguladores

M

8-MOP: 8 metoxipsoraleno
MF: micosis fungoide
mg: miligramos
ml: mililitro
mmHg: milímetro de mercurio
mn: minutos
MMF: mofetil micofenolato

MO: médula ósea
MTX: metotrexate
mTOR: Diana mamaria de inhibidores de rapamicina (mammalian target of rapamycin inhibitors)

N

NE: no estudiado
ng: nanogramo
NIH: Instituto Nacional de la Salud (National Institute of Health)
nm: nanómetro
NR: no respuesta
NS: no significativo
NK: células natural killer

O

O: separador celular Optia

P

PUVA: tratamiento que combina psoraleno y radiación ultravioleta A
PK: piruvato quinasa

R

R: receptor
RC: remisión completa
RP: remisión parcial
rpm: revoluciones por minuto

S

sc: superficie corporal
SCU: sangre de cordón umbilical
SIdEM: Sociedad Italiana de Aféresis
S34: selección CD34
SP: sangre periférica
SPSS: paquete estadístico para las ciencias sociales (Statistical Package for the Social Science)
SS: síndrome de Sézary

T

TAS: tensión arterial sistólica
Th1: células T helper 1
Th2: células T helper 2

U

UI: unidades internacionales
UVA: radiación ultravioleta A
µL: microlitros

V

v: versión

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La fotoféresis o fotoquimioterapia extracorpórea (FEC) es una técnica que ha demostrado ser útil para el tratamiento de pacientes trasplantados con enfermedad injerto contra huésped (EICH), aunque el mecanismo de acción biológico aun no se comprende en su totalidad. La FEC implica la exposición de las células mononucleares de la sangre periférica del paciente, extraídas mediante un procedimiento de aféresis, a los efectos de la luz ultravioleta A (UVA) en presencia de un agente fotoactivable, el 8 metoxipsoraleno (8-MOP) que se intercala en el ácido desoxirribonucleico (ADN) e induce la apoptosis rápida y masiva de los leucocitos. Posteriormente estas células apoptóticas son reinfundidas en el paciente consiguiendo desarrollar una respuesta inmune dirigida contra los linfocitos reinfundidos.

1.- Fotoféresis extracorpórea: inicio, mecanismo de acción, aspectos técnicos e indicaciones.

1.1 Inicio.

La combinación de psoralenos y radiación solar en el tratamiento de enfermedades de la piel, ya era utilizada en la antigüedad ⁽¹⁻³⁾. En Egipto y en la India entre los años 2000 hasta 1200 antes de Cristo, preparaban una serie de ungüentos e infusiones que combinados con la radiación solar tenían propiedades curativas en personas con alteraciones del color de la piel (vitíligo). Pero no fue hasta 1987, cuando Edelson y col. ⁽⁴⁾ publicaron un nuevo tratamiento para el manejo de pacientes con linfoma cutáneo de células T diseminado, al que denominaron fotoquimioterapia extracorpórea o fotoféresis extracorpórea (FEC). A partir de ese momento se ha ido extendiendo el tratamiento con FEC a distintas enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, el pénfigo o la dermatomiositis (Tabla 1).

Tabla 1: Inicio de tratamiento con fotoféresis extracorpórea.

Año de inicio de FEC	Enfermedad
1987	Linfoma cutáneo T. Transplante de órgano sólido (riñón rata).
1990	Pénfigo vulgaris.
1992	Artritis reumatoide. Esclerosis sistémica. Rechazo agudo trasplante cardiaco.
1994	Lupus eritematoso sistémico.
1995	Enfermedad injerto contra huésped.

FEC: fotoféresis extracorpórea

Por la similitud de la EICH con una enfermedad autoinmune, se ha utilizado en esta complicación del trasplante desde hace casi dos décadas, principalmente en pacientes adultos. La experiencia en pacientes pediátricos es menor por las dificultades técnicas del procedimiento.

1.2 Mecanismo de acción de la fotoféresis extracorpórea.

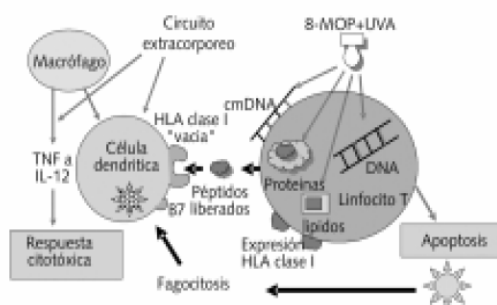
El mecanismo exacto de la FEC aun no se conoce en su totalidad. Teniendo en cuenta que en cada ciclo sólo se tratan un porcentaje mínimo de linfocitos T circulantes (5%), deben de producirse otros efectos en las células responsables de la EICH, que aunque no son recogidas en el procedimiento de aféresis, también colaboran en el efecto terapéutico. En esta línea de investigación se centran los estudios actuales, mediante el análisis de las células "natural killer" (NK), las células presentadoras de antígeno (CPA), principalmente las células dendríticas (CD) y las subpoblaciones de linfocitos T (LT), sobre todo las células T reguladoras.

1.2.1 ¿Qué ocurre durante el procedimiento de aféresis?

Durante el procedimiento de aféresis, los monocitos-macrófagos del paciente se activan al pasar por el circuito extracorpóreo, transformándose en células dendríticas (CD) o células presentadoras de antígenos (CPA) ⁽⁵⁾.

Las CD sufren un proceso de maduración iniciado por señales inflamatorias, y completado tras el contacto con los linfocitos T (LT). La maduración permite a las CD migrar de la periferia a los órganos linfoides y adquirir una potente capacidad como CPA. Las CD maduras son las más relevantes, ya que inician la respuesta de los LT helper 1 (Th1) y expresan el receptor CCR7. Se han identificado dos tipos distintos de precursores de CD: monocitoides (CD1) y plasmocitoides o tolerogénicas (CD2). Las CD1 producen gran cantidad de interleuquina-1 (IL-1), interferón gamma (IFN γ), e inducen a los LT helper a diferenciarse a Th1. Las CD2 inducen un patrón de citoquinas antiinflamatorio (IL-4, IL-10) e inducen a los LT helper a diferenciarse en Th2. La fotoféresis produce el paso de CD1 activadas a CD2. Esto se asocia al predominio de citoquinas antiinflamatorias o Th2, frente a las Th1 o inflamatorias y a una menor capacidad de estimulación de proliferación de los LT. (Figura 1) ⁽⁶⁻⁷⁾.

Figura 1: Mecanismo de acción de la fotoféresis extracorpórea.



1.2.2 ¿Cómo actúa el psoraleno?

Los psoralenos son un grupo de compuestos fotorreactivos que se activan mediante la radiación de una amplia gama de longitudes de onda. La fotoactivación de una molécula de psoraleno provoca un estado transitorio de microsegundos, en el que es químicamente reactivo, uniéndose de modo covalente a una molécula celular diana, interrumpiendo su función. El psoraleno más utilizado y el único aprobado en la actualidad para uso clínico es el 8-metoxipsoraleno (8-MOP). El 8-MOP es una furocumarina lineal (Figura 2) que cuando se expone a la radiación ultravioleta A (UVA, entre 320-400 nm) interacciona con la cadena del ácido desoxirribonucleico (ADN) celular (Figura 3).

Figura 2: 8-metoxipsoraleno.

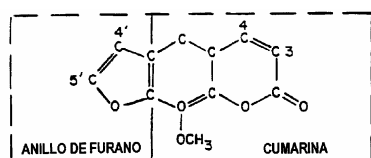
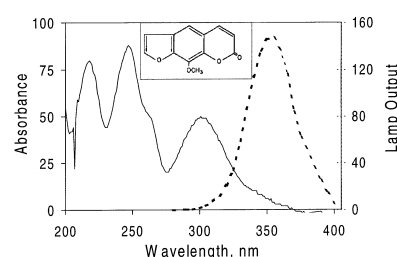


Figura 3: Radiación ultravioleta, entre 320-400 nm.



Esta interacción provoca la formación de enlaces covalentes entre dos bases pirimidínicas, intercalándose entre las hebras de ADN, impidiéndose así su síntesis. Además existen estudios donde se ha visto que el 8-MOP también puede interaccionar con el ADN de membrana, con aminoácidos, lípidos y proteínas ⁽⁸⁾.

Rook y col. observaron que los linfocitos autoreactivos y tumorales eran más sensibles al efecto del tratamiento con psoraleno y radiación UVA (PUVA), porque tienen un mayor número de receptores para los psoralenos ⁽⁹⁾. También se ha descrito que los monocitos son las células más resistentes a la acción del psoraleno, pero también acaban entrando en apoptosis ⁽¹⁰⁾.

El producto recogido durante el procedimiento de aféresis, contiene CPA y LT, entre otros tipos celulares. Al tratar el producto de aféresis con PUVA, el 8-MOP, activado por la radiación UVA, actúa sobre el LT, intercalándose en la cadena del ADN nuclear, del ADN de membrana, con las proteínas y los lípidos. Todo ello provoca una inhibición funcional completa del linfocito, que acaba con la muerte celular por apoptosis 48-72 horas después (Figura 1).

1.2.3 ¿Qué ocurre al reinfundir al paciente el producto tratado?

Como en cada proceso se tratan menos del 5% de los linfocitos del organismo, el efecto del tratamiento sobre el resto se relaciona con la autoinmunidad inducida frente a los LT inmunogénicos (o tratados). Esta hipótesis es conocida como la teoría de la "autovacunación T" ⁽¹¹⁾. Al reinfundir el producto tratado al paciente, las CPA son capaces de captar los péptidos liberados por los LT inmunogénicos, y gracias a sus receptores de superficie

son capaces de reconocer a las proteínas de membrana de las células apoptóticas, fagocitando a los LT apoptóticos.

Las CD inmaduras, en la presencia de los LT apoptóticos aumentan su potencia antigénica manteniendo su estado inmaduro y por lo tanto, la tolerancia periférica. Tras la fotoféresis, las CD inmaduras capturan de forma eficaz los linfocitos apoptóticos sin producirse cambios en su estado madurativo.

La fotoféresis se asocia también a un aumento de los LT reguladores (LT reg): CD4+, CD25+, Foxp3+, que habitualmente sólo suponen un 5-10% de los linfocitos CD4. Su función es evitar el desarrollo de fenómenos autoinmunes y favorecer la tolerancia, ayudando al control de la enfermedad injerto contra huésped (EICH). Esto ha sido estudiado en modelos murinos de tratamiento experimental de la EICH ⁽¹²⁾. Se ha visto que las células dendríticas tolerogénicas crean un ambiente antiinflamatorio que limita la estimulación de los LT efectores y producen un incremento de los LT reg, que se dirigen al lugar donde hay inflamación.

Además la respuesta clínica a la FEC se asocia a una normalización de la ratio CD4/CD8 y a un aumento de las células NK ⁽¹³⁾.

1.3 Aspectos técnicos del procedimiento de aféresis.

1.3.1 Métodos de realización de fotoféresis extracorpórea.

Para realizar el procedimiento de fotoféresis extracorpórea (FEC), existen dos métodos diferentes: el método “off-line” y el método “on-line” ⁽¹⁴⁻¹⁸⁾.

Ambos métodos tienen como objetivo la recogida de células mononucleadas (CMN) del paciente, el procesamiento de las CMN (administración del psoraleno e irradiación) y la reinfusión de las CMN tratadas al paciente.

Las principales diferencias de los métodos utilizados se detallan a continuación:

1. Método “Off-Line”:

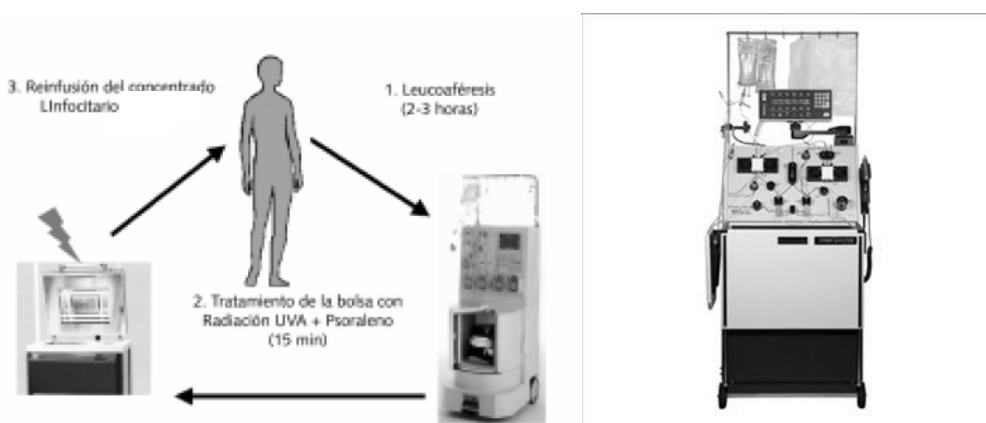
Este procedimiento se lleva a cabo en dos etapas. La primera de ellas empieza desde que se conecta al paciente al separador celular, hasta recoger un volumen de sangre determinado (entre 1 y 2 volémias); después se desconecta al paciente. La segunda etapa se produce cuando al producto recogido se le añade suero fisiológico y el psoraleno (8-MOP), y se irradia, para finalmente infundirlo al paciente (Figura 4).

- Tipos de separadores celulares utilizados según el sistema de flujo:
 - Sistema de flujo continuo: Cobe Spectra (Terumo BCT, Denver, CO), Spectra Optia (Terumo BCT, Denver, CO) o Amicus (Fenwal, Inc; Lake Zurich, IL). Este tipo de separadores, al utilizar un sistema de flujo continuo, permite realizar colectas a pacientes de bajo peso, mediante el

cebado del equipo antes de iniciar el procedimiento, evitando así las complicaciones secundarias a la disminución del volumen sanguíneo al iniciar la colecta.

- Sistema de flujo discontinuo: Haemonetics MCS plus (Haemonetics Corp; Braintree, MA), no recomendado su uso en pacientes pediátricos por los problemas secundarios a la hipovolemia.

Figura 4: Método “Off-line”.

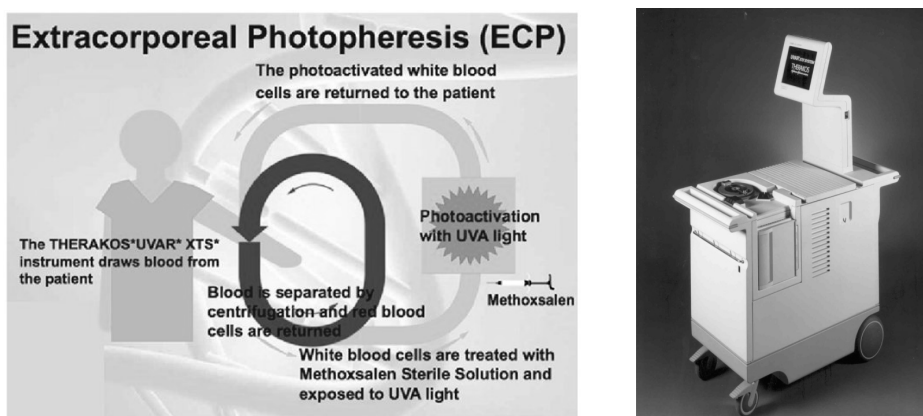


2. Método “On-Line”.

El paciente permanece conectado al separador celular desde el inicio del procedimiento hasta que se le reinfunde el producto tratado e irradiado. La sangre total extraída al paciente, se centrifuga dentro del separador celular, separando las CMN del resto de los componentes de la sangre, que son devueltos al paciente. Las CMN separadas son tratadas con 8-MOP e irradiadas con luz ultravioleta A dentro del propio separador celular, reinfundiéndose posteriormente al paciente (Figura 5).

- Tipos de separadores celulares utilizados según el sistema de flujo:
 - Sistema de flujo discontinuo: TherakosTM UVAR XTS. Este tipo de separador celular utiliza un sistema de flujo discontinuo. Al tratarse de sistema de flujo discontinuo se recomienda realizarlo a paciente de más de 40 Kg, para que no noten los efectos secundarios a la hipovolemia, sobre todo al inicio del procedimiento. La duración aproximada es de 3 horas.
 - Sistema de flujo continuo: CELLEX TherakosTM Systems. Este tipo de separador celular utiliza un sistema de flujo continuo, permitiendo el cebado del separador, pudiéndose utilizarse en pacientes de bajo peso, incluso hemodinámicamente inestables.

Figura 5: Método “On-line”.



1.3.2 Accesos vasculares

Es muy importante asegurar un flujo sanguíneo adecuado antes de iniciar el procedimiento. Según el tipo de paciente (edad, facilidad de canalización de vías, peso...), los accesos venosos pueden ser vías venosas periféricas en flexuras o un catéter venoso central (CVC). La conexión de las líneas de acceso y retorno al paciente, se realizan preferentemente con el acceso a la luz proximal y el retorno a la distal, siempre y cuando el flujo sea suficiente. Estos CVC se mantienen hasta que se finaliza el tratamiento con FEC. Si no funcionan adecuadamente (por ejemplo: obstrucción, trombosis,...) se retirarán. En caso de infección del catéter, si el paciente está clínicamente bien y es un germen Gram positivo se puede tratar con antibioterapia; de no ser así se retirará ⁽¹⁴⁾.

1.3.3 Efectos secundarios durante la realización de la aféresis

Los procesos de recolección generalmente originan efectos adversos leves, como detallaremos más adelante. Las posibles complicaciones que pueden producirse son:

- a) Por la colocación de accesos venosos (CVC o vías periféricas): hemorragias, dolor o hematomas en los sitios de punción.
- b) Efectos adversos comunes a todos los procedimientos de aféresis ^(19, 20):
 1. Reacciones por hipovolemia: reacciones vasovagales, hipotensión, taquicardia,...
 2. Reacciones por la toxicidad por citrato: parestesias y/o tetania.
 3. Otros: escalofríos, hemólisis, citopenias en procesos prolongados o repetidos.

1.4 Indicaciones de la fotoféresis extracorpórea.

El linfoma T cutáneo fue la primera enfermedad tratada con FEC. Edelson y col. ⁽⁴⁾, en 1987, publicaron un estudio prospectivo y multicéntrico de 37 pacientes con linfoma T cutáneo resistentes al tratamiento con quimioterapia y/o radioterapia, a los que se les realizó tratamiento con FEC. De los 37 pacientes se obtuvo una respuesta objetiva en 27 (71%) con una disminución promedio del 60% en la afectación cutánea. Nueve pacientes entraron en remisión completa, de los cuales 4 estuvieron libres de enfermedad durante 10 años. El tratamiento fue muy bien tolerado y no se observaron efectos adversos secundarios asociados a la FEC ^(4, 21, 22). El seguimiento a largo plazo de estos pacientes ha demostrado una supervivencia media de 60,3 meses desde el diagnóstico, superior a los controles históricos. Desde el trabajo de Edelson, la experiencia comunicada con este tratamiento en numerosas publicaciones confirma los resultados iniciales, obteniendo buena respuesta en un 60%, siendo de estas respuestas completas en un 20% de los pacientes. La FEC en combinación con otros agentes inmunomoduladores parece que es mucho más efectiva que cuando se utiliza como monoterapia ^(21, 22).

La Sociedad Americana de Aféresis, actualizó en el año 2013 la Guía sobre el uso de la aféresis terapéutica en la práctica clínica (ASFA: American Society for Apheresis). Las principales indicaciones terapéuticas de la FEC, de acuerdo a esta guía se recogen en la tabla 2 ⁽²³⁾.

Tabla 2: Categorías e indicaciones para fotoféresis extracorpórea según la Guía ASFA del 2013.

Nombre de la enfermedad	Categoría	Grado de recomendación
Linfoma cutáneo T: MF/SS		
- Eritrodérmico	I	1B
- No eritrodérmico	III	2C
Rechazo trasplante cardiaco		
- Profilaxis	II	2A
- Tratamiento del rechazo	II	1B
Rechazo del trasplante pulmonar		
- Bronquiolitis obliterante	II	1C
EICH		
- Piel (EICHc)	II	1B
- Piel (EICHa)	II	1C
- No de la piel (EICHa/EICHc)	III	2B
Pénfigo vulgar severo	III	2C
Fibrosis sistémica nefrogénica	III	2C
Esclerodermia (esclerosis sistémica progresiva)	III	2B
Enfermedad inflamatoria intestinal:		
- Enfermedad de Crohn	III	2C
Psoriasis pustular diseminada	III	2B

EICH: enfermedad injerto contra huésped, EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica, MF: micosis fungoide, SS: síndrome de Sézary

Las siguientes tablas nos definen cada una de las categorías y grados de recomendación de acuerdo a la Guía sobre el uso de la aféresis terapéutica en la práctica clínica ASFA 2013 ⁽²³⁾.

Tabla 3: Grados de recomendación utilizada en la edición especial de la Guía sobre el uso de la aféresis terapéutica en la práctica clínica ASFA 2013.

Grado de recomendación	Recomendación	Calidad de la evidencia
1A	Fuerte	Alta
1B	Fuerte	Moderada
1C	Fuerte	Baja o muy baja
2A	Débil	Alta
2B	Débil	Moderada
2C	Débil	Baja o muy baja

Tabla 4: Categorías utilizadas en la edición especial de la Guía sobre el uso de la aféresis terapéutica en la práctica clínica ASFA 2013.

Categoría	
I	Trastornos en los cuales la aféresis es aceptada como tratamiento de primera línea, ya sea único o conjuntamente con otros tratamientos.
II	Trastornos en los cuales a aféresis es aceptada como tratamiento de segunda línea, ya sea como tratamiento único o asociado a otros tipos de tratamiento.
III	No se ha establecido el papel óptimo del tratamiento mediante aféresis. Las decisiones deben ser tomadas analizando cada caso individualmente.
IV	Trastornos en los cuales la evidencia publicada demuestra o sugiere que la aféresis es inefectiva o perjudicial.

2. Fotoféresis extracorpórea en la enfermedad injerto contra huésped

La fotoféresis o fototerapia extracorpórea (FEC), es una técnica que ha demostrado ser útil en pacientes con enfermedad injerto contra huésped, aunque el mecanismo biológico de acción sigue siendo en la actualidad tema de estudio.

2.1 ¿Qué es la Enfermedad injerto contra huésped?

La enfermedad injerto contra huésped (EICH) es la consecuencia de la interacción entre las CPA del receptor y los LT del donante. Los LT activados del donante reconocen como extraños antígenos del receptor, desencadenando el proceso. Es la principal causa de morbi-mortalidad del trasplante hematopoyético. Actualmente la frecuencia de EICH está aumentando. Los principales motivos son el aumento del número de trasplantes realizados en los últimos diez años, siendo cada vez de mayor complejidad, y el aumento de trasplantes con disparidad HLA (antígeno leucocitario humano) entre donante y receptor.

En 1996 Billingham, describió las tres condiciones que se deben cumplir para que se produzca dicha complicación ⁽²⁴⁾:

- 1) El inóculo debe contener células inmunológicamente competentes.
- 2) El receptor debe estar inmunosuprimido, es decir, debe ser incapaz de iniciar una respuesta inmune contra el donante.
- 3) El receptor debe tener aloantígenos que difieran de los del donante.

El factor de riesgo más importante para que se produzca la EICH es la disparidad HLA entre el donante y el receptor. En la siguiente tabla se describen los principales factores de riesgo:

Tabla 5: Factores de riesgo de la EICH.

	Menor riesgo	Mayor riesgo
Tipo donante	Familiar idéntico	No familiar
Fuente de progenitores	SCU	MO < SP
Edad del receptor	Menor edad	Mayor edad
Sexo	Mujer (D)/ Hombre (R)	Hombre (D)/Mujer (R)
Intensidad del acondicionamiento	No mieloablativo	Mieloablativo
Profilaxis EICH	Si	No
Aloinmunización donante	No	Embarazo, transfusión previa

SCU: sangre de cordón umbilical, MO: médula ósea, SP: sangre periférica, EICH: enfermedad injerto contra huésped, D: donante, R: receptor

Tradicionalmente la EICH se clasificaba en aguda (EICHa) o crónica (EICHc) según se produjera antes o después del día +100 postrasplante, respectivamente. Sin embargo, se ha visto que esta división no era adecuada. En el año 2005, el Instituto Nacional de la Salud Americano (National Institute of Health) propuso una nueva clasificación basada más en los síntomas que en el tiempo de desarrollo como se muestra en la tabla 6 ⁽²⁵⁾.

Tabla 6: Clasificación de EICH aguda y EICH crónica.

Categoría	Tiempo de aparición	Síntomas de agudo	Síntomas de crónico
a) EICH aguda			
Clásico	<100 días	Sí	No
Recurrente, inicio tardío	>100 días	Sí	No
b) EICH crónica			
Clásico	Sin límite de tiempo	No	Sí
Superposición	Sin límite de tiempo	Sí	Sí

Clínicamente la EICHa cursa con afectación en mayor o menor grado principalmente en la piel, el tubo digestivo o el hígado. Los pacientes con EICHc, además pueden presentar alteraciones en pulmón, mucosa oral y ocular, entre otras, comportándose como una enfermedad autoinmune ⁽²³⁾.

Es muy importante iniciar una profilaxis adecuada para poder prevenir o disminuir las complicaciones que sufren los pacientes trasplantados. De modo general se pueden distinguir dos tipos de profilaxis para la EICH:

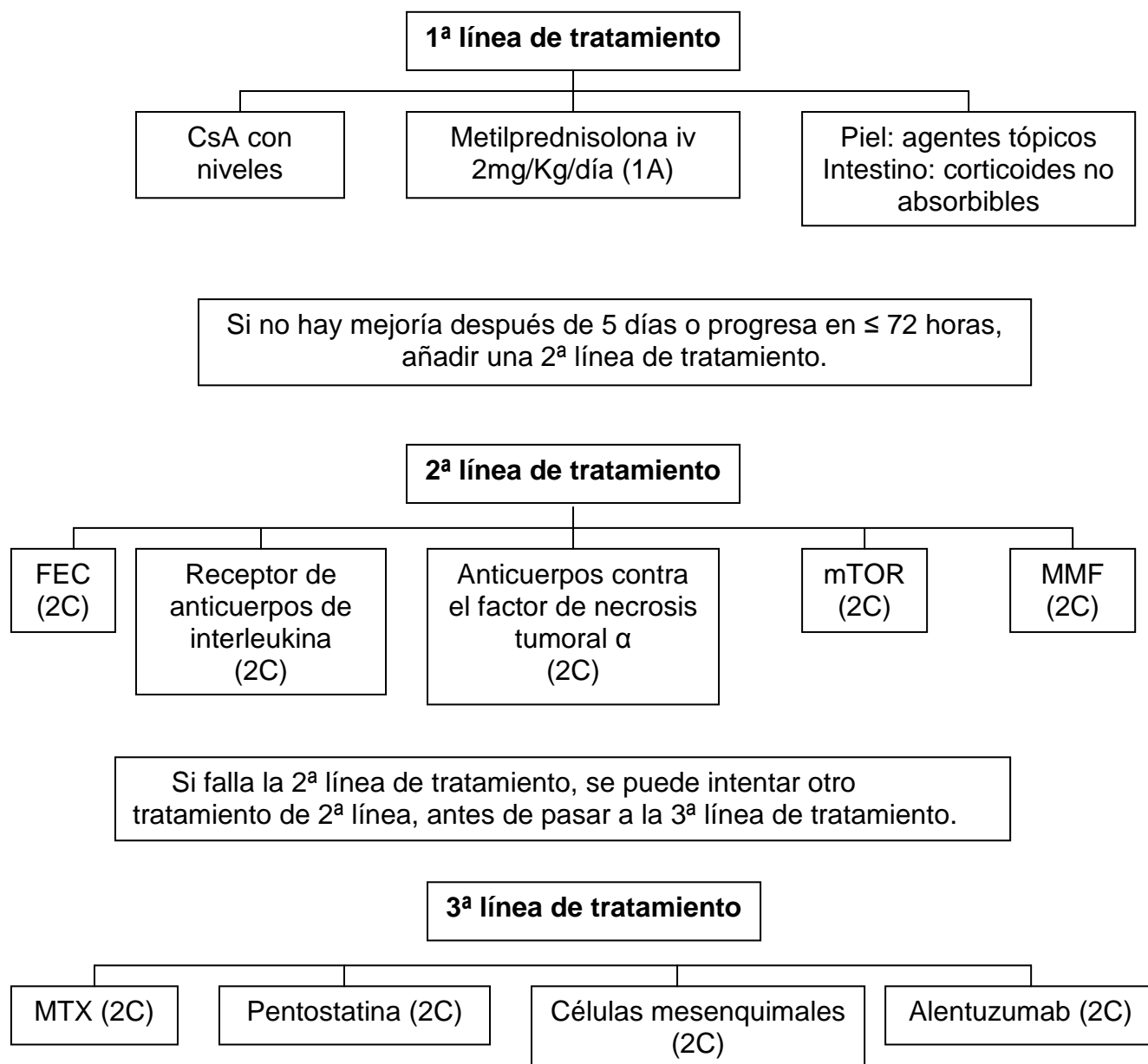
- Profilaxis farmacológica: consiste en la administración de inmunosupresores al receptor, tales como ciclosporina A (CsA) y metotrexate (MTX) a dosis bajas (ya sea en monoterapia o en combinación), que es la pauta clásica, u otros como rapamicina, tacrolimus, mofetil micofenolato (MMF)...
- Profilaxis no farmacológica: La depleción de LT es el método más efectivo para reducir la incidencia y gravedad de la EICH. Las técnicas de manipulación celular realizadas previamente a la infusión al paciente, son principalmente la selección CD34+ (S34) o la depleción CD3/CD19 (DPL3/19). Recientemente se está usando la depleción alfa/beta (DPL α/β) con el objetivo de aumentar la infusión de linfocitos γ/δ que son tolerogénicos, mejorando así la reconstitución inmune sin producir EICH.

A pesar de las medidas profilácticas tomadas en estos pacientes, la incidencia de EICH se encuentra entre el 20-60% dependiendo del tipo de trasplante (entre 10-80% de EICHa y entre 30-50% en EICHc en trasplantes no manipulados) ^(5, 14).

Una vez desarrollada la EICH el tratamiento farmacológico es la principal opción terapéutica, siendo de elección el tratamiento con corticoides. Entre un 25-40% de los pacientes con EICHa responden completamente al tratamiento con corticoides. Aproximadamente entre un 30-40% de los pacientes no responden a este tratamiento, empeorando su pronóstico notablemente y falleciendo por infecciones y/o fallo multiorgánico asociado a la EICH. Son subsidiarios a iniciar una 2ª línea de tratamiento los pacientes que no responden a la 1ª línea de tratamiento, es decir, pacientes refractarios al tratamiento esteroideo, entendiéndose como refractarios aquellos pacientes que a los 3-4 días de haber iniciado el tratamiento se observa una progresión de la

EICHa, los pacientes que no se observan cambios tras 7 días de tratamiento y en lo que presentan una respuesta incompleta a los 14 días de haber recibido tratamiento. En la figura 6 se describe la última guía de recomendación de tratamiento en pacientes con EICHa de acuerdo a la Sociedad Británica de Trasplante (BCSH/BSBMT) ⁽²⁶⁾.

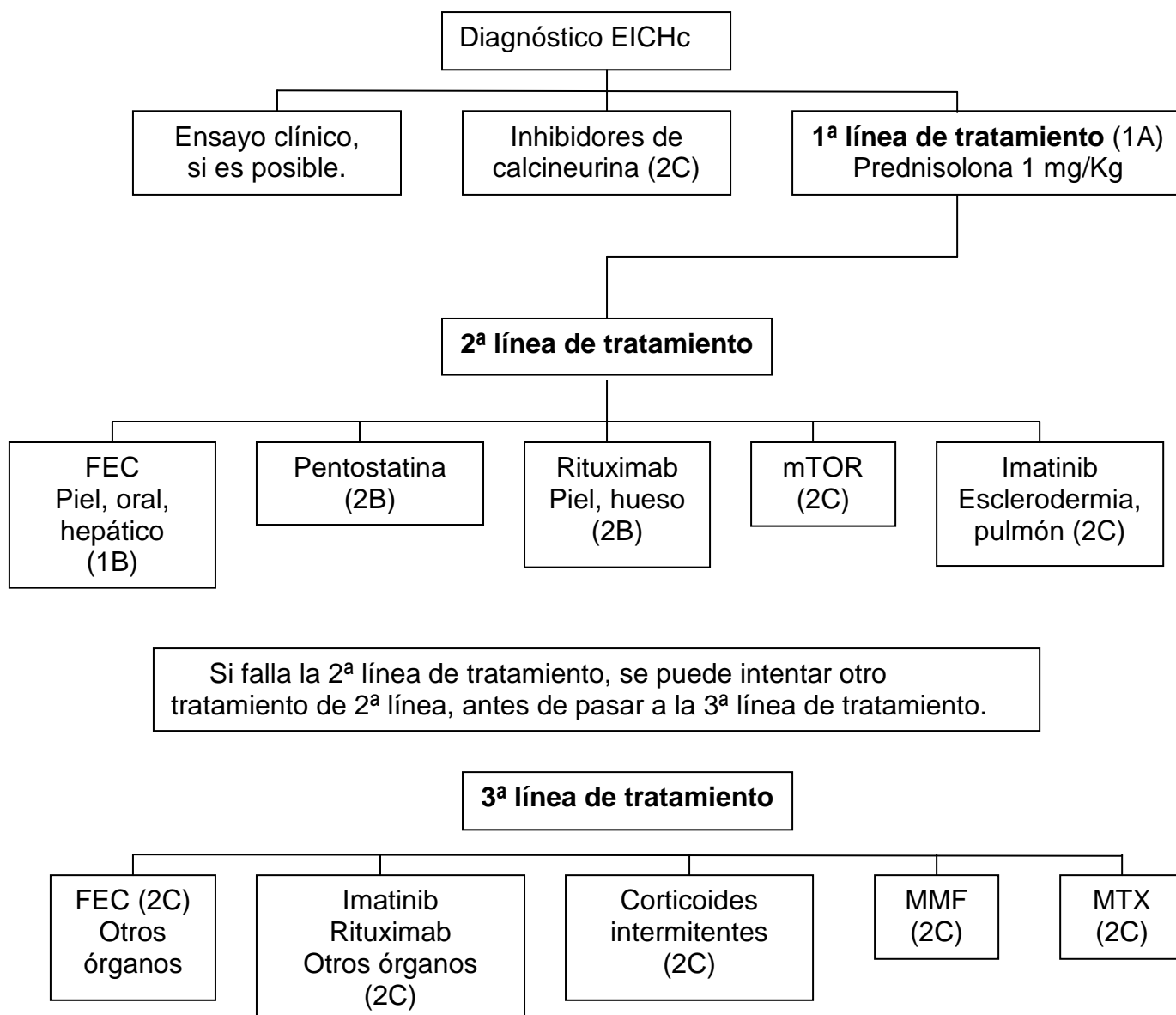
Figura 6: Guía de recomendación 2012 BCSH/BSBMT de tratamiento en pacientes con EICHa grado III-IV ⁽²⁶⁾.



BCSH/BSBMT: Comité Británico de Estándares de Hematología / Sociedad Británica de trasplante de médula ósea (British Committee for Standards in Haematology / British Society for Blood and Marrow Transplantation), EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, CsA: ciclosporina, mg: miligramos, Kg: kilogramos de peso, iv: intravenosa, FEC: fotoféresis extracorpórea, mTOR: diana mamaria de inhibidores de rapamicina (mammalian target of rapamycin inhibitors), MMF: mofetilmicofenolato, MTX: metotrexate.

Los pacientes con EICHc, que inician tratamiento de 2ª línea son aquellos corticorresistentes, corticodependientes y/o pacientes con enfermedad avanzada. En la figura 7 se describen las última guía de recomendación de tratamiento en pacientes con EICHc de acuerdo a la Sociedad Británica de Trasplante (BCSH/BSBMT) ⁽²⁷⁾.

Figura 7: Guía de recomendación 2012 BCSH/BSBMT de tratamiento en pacientes con EICHc ⁽²⁷⁾.



BCSH/BSBMT: Comité Británico de Estándares de Hematología / Sociedad Británica de trasplante de médula ósea (British Committee for Standards in Haematology / British Society for Blood and Marrow Transplantation), EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica, mg: miligramos, Kg: kilogramo de peso, FEC: fofoféresis extracorpórea, mTOR: diana mamaria de inhibidores de rapamicina (mammalian target of rapamycin inhibitor), MMF: moetilmicofenolato, MTX: metotrexate

La Sociedad Americana de Trasplante de Médula (The American Society for Blood and Marrow Transplantation) también han publicado las últimas guías de recomendación para el tratamiento de primera y segunda línea en pacientes con EICHa⁽²⁸⁾ y EICHc⁽²⁹⁾.

En los pacientes con EICHa recomiendan como 1ª línea de tratamiento el uso de metilprednisolona a 2 mg/Kg/día o prednisona a 2-2,5 mg/Kg/día. En caso de pacientes con EICHa sólo en el tracto gastrointestinal alto, recomiendan reducir la dosis a 1 mg/Kg/día. El descenso del tratamiento esteroideo debería iniciarse cuando el paciente mejore clínicamente, para evitar un empeoramiento de la enfermedad. La disminución debe ser progresiva a 0,2 mg/Kg cada 3-5 días, siendo aun más lenta cuando la dosis total recibida sea \leq 20-30 mg/día. La combinación de esteroides con otros tratamientos, sólo se contempla dentro de ensayos clínicos fase II o fase III. El inicio de la 2ª línea de tratamiento estaría indicado en los pacientes con EICHa con progresión y/o no mejoría de las manifestaciones clínicas durante 3 días, en los pacientes con EICHa grado III en los que tras 1 semana de tratamiento persiste la progresión o no alcanzan mejoría, o en 2 semanas de tratamiento en los pacientes con EICHa grado II; y en los pacientes que no toleran el tratamiento con esteroides a altas dosis. De todos los tratamientos de segunda línea utilizados (MMF, inmunoglobulina antitimocítica (ATG), FEC, infliximab, etanercept, pentostatina,...) no se ha encontrado ninguno que sea superior al anterior. Por lo que se recomienda individualizar cada caso, para seleccionar el tratamiento de 2ª línea más adecuado a cada paciente⁽²⁸⁾.

Las recomendaciones en el tratamiento de 2ª línea en los pacientes con EICHc refractarios a esteroides según la Sociedad Americana de Trasplante de Médula se detallan a continuación. En esta guía se considera que un paciente es refractario a esteroides cuando progresa la EICH independientemente de estar en tratamiento con prednisona a 1 mg/Kg/día durante 2 semanas, no mejora la enfermedad aun con dosis de prednisona \geq 0,5 mg/Kg/día durante 4-8 semanas y/o no se pueda disminuir la dosis de prednisona a menos de 0,5 mg/Kg/día. La duración del tratamiento elegido dependerá de las manifestaciones clínicas del paciente y/o de la toxicidad del fármaco. Los tratamientos de 1ª línea de elección son aquellos que han demostrado desarrollar menos efectos secundarios, siendo los más utilizados la FEC, mTOR, MMF o los inhibidores de calcineurina. En la tabla 7 se recogen los principales tratamientos de 2ª línea, de acuerdo a los grados de recomendación (tabla 8) y calidad de la evidencia (tabla 9). Los pacientes se evalúan a las 8-12 semanas del inicio del tratamiento. Si a las 4 semanas se evidencia progresión de la enfermedad (ó a las 6 semanas en caso de pacientes con EICHc con esclerodermia), se recomienda ofrecer otra línea de tratamiento diferente⁽²⁹⁾.

Tabla 7: Tratamientos de 2ª línea en pacientes con EICHc según la Guía de recomendación 2011 de la Sociedad Americana de Trasplante de Médula (The American Society for Blood and Marrow Trasplantation) ⁽²⁹⁾.

Tratamiento	Recomendación	Evidencia	Efectos secundarios
Esteroides	B	III-I	Osteoporosis, diabetes, necrosis avascular
FEC	C-I	II	Acceso venoso necesario
mTOR	C-I	III-I	Hiperlipemia, toxicidad hematológica
Inhibidores calcineurina	C-I	III-I	Toxicidad renal, HTA
MMF	C-I	III-I	Alteraciones GI, riesgo de infección, riesgo de recaída
Pentostatina	C-2	II	Toxicidad hematológica, riesgo de infección
MTX		III-I	Toxicidad hematológica
Imatinib	C-2	III-I	Retención de líquidos
Rituximab	C-2	II	Riesgo de infección
Hidroxicloroquina	C-2	III-2	Alteraciones GI
Clofazimina	C-2	III-2	Alteraciones GI, hiperpigmentación cutánea
Irradiación toracoabdominal	C-2	III-2	Toxicidad hematológica
Pulsos de esteroides	C-2	III-2	Riesgo de infección
Talidomida	C-3	II	Neurotoxicidad, sedación, estreñimiento
Azatioprina	C-3	III-I	Toxicidad hematológica, riesgo de infección
Retinoides	C-3	III-2	Toxicidad cutánea, hiperlipemia
Alemtuzumab	C-4	III-3	Riesgo de infección
Alefacept	C-4	III-3	Riesgo de infección
Etanercept	C-4	III-3	Riesgo de infección

EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica, FEC: fotoféresis extracorpórea, mTOR: diana mamaria de inhibidores de rapamicina (mammalian target of rapamycin inhibitor), MMF: moetilmicofenolato, MTX: metotrexate, HTA: hipertensión arterial, GI: gastrointestinal

Tabla 8: Grados de recomendación según la Guía de recomendación 2011 de la Sociedad Americana de Trasplante de Médula (The American Society for Blood and Marrow Trasplantation) para el tratamiento de 2ª línea en pacientes con EICHc ⁽²⁹⁾.

Grados de recomendación	Recomendación
A	Debería ofrecerse siempre.
B	Debe generalmente ofrecerse.
C	Evidencia de su eficacia insuficiente. Opcional.
C-1	Uso como 2ª línea de tratamiento muy justificado.
C-2	Uso como 2ª línea de tratamiento justificado.
C-3	Limitado a circunstancias específicas.
C-4	Experimental.
D	Debería no ofrecerse.

Tabla 9: Calidad de la evidencia según la Guía de recomendación 2011 de la Sociedad Americana de Trasplante de Médula (The American Society for Blood and Marrow Trasplantation) para el tratamiento de 2ª línea en pacientes con EICHc ⁽²⁹⁾.

Calidad de la evidencia	Definición
I	Evidencia en más de un ensayo clínico controlado, randomizado.
II	Evidencia en más de un ensayo clínico bien diseñado sin randomización, estudios de cohortes o casos-control, estudios analíticos (preferible de más de un centro), múltiples series, o muy malos resultados de experimentos no controlados.
III	Evidencia de las opiniones de autoridades respetadas basadas en la experiencia clínica y/o estudios, informes de comités de expertos.
III-1	Varios ensayos clínicos pequeños o revisiones no controlados.
III-2	Ensayos clínicos pequeños o revisiones retrospectivas no controladas.
III-3	Casos clínicos publicados

2.2 Fotoféresis extracorpórea en la enfermedad injerto contra huésped

Son varios los estudios publicados sobre el tratamiento de 2ª línea con FEC en pacientes con EICH ^(5, 14, 23, 26-29).

Greinix y col. ⁽³⁰⁾, en 1998 fueron los primeros en publicar una serie de 21 pacientes afectados de EICH tratados con FEC. De los 21 pacientes (10 hombres y 11 mujeres) con edad media de 36 años (25-55 años), 6 tenían una EICHa grado II-III, resistente a todas las líneas de tratamiento, y 15 pacientes tenían EICHc extenso (con afectación de piel en 15 pacientes, en hígado 10, en mucosa oral 11, en ojos 6 y trombopenia en 3). El esquema de tratamiento fue de 2 días a la semana cada 2 semanas, durante 3 meses, y luego 2 días a la

semana cada 4 semanas hasta alcanzar máxima respuesta. A los 14 ciclos observaron que los pacientes con EICHa, un 67% (4/6) alcanzaban remisión completa (RC) y tan sólo 2 remisión parcial (RP). De los pacientes con EICHc, alcanzaron RC en piel un 80% (12/15) y un 70% en hígado (7/10).

Los principales problemas que nos encontramos al intentar estandarizar este tratamiento, es la ausencia de protocolos, criterios de selección y parámetros de monitorización en los pacientes con EICH^(14, 26-29).

Foss y col.⁽³¹⁾ publicaron un estudio prospectivo de 25 pacientes con EICHc refractarios a tratamiento esteroideo, que recibieron tratamiento con FEC. Dividieron a los pacientes en dos grupos: 17 pacientes recibieron tratamiento con FEC 2 días a la semana cada 2 semanas y 8 pacientes recibieron tratamiento con FEC una vez a la semana, hasta alcanzar mejoría. La duración media del tratamiento con FEC fue de 9 meses. De los 25 pacientes, 20 mejoraron la afectación cutánea y 6 curaron las úlceras orales. El 80% de los casos disminuyó e incluso llegaron a suspender el tratamiento con corticoides y/o inmunosupresores. En relación a los protocolos utilizados, no encontraron diferencias significativas en realizar un esquema de tratamiento u otro. Con los datos analizados concluyeron que la respuesta era mejor en aquellos pacientes que habían desarrollado una EICHc progresiva que en aquellos que su aparición había sido “de novo”, encontrando que el 71% de los pacientes alcanzaban una mejoría global.

Los estudios randomizados más importantes publicados hasta la fecha son en series de pacientes adultos con EICHc^(32, 33).

Greinix y col.⁽³²⁾. De los 41 pacientes con EICH que habían recibido tratamiento estándar, al reevaluarlos a la semana 12, observaron que 29 pacientes no había tenido ningún beneficio, progresando la EICH cutánea en 6 pacientes, y en 23 habían tenido una respuesta inadecuada al tratamiento recibido (eran refractarios, intolerantes o dependientes de esteroides). De los 29 pacientes (14 hombres y 15 mujeres) con edad media de 43 años (20-67 años), presentaban EICH cutánea extensa en 26 pacientes (90%). Dentro de la EICH extracutánea 15 pacientes (52%) presentaban EICH ocular, 2 (7%) gastrointestinal, 6 (21%) hepática, 4 (14%) pulmonar, 20 (69%) oral y 12 (41%) musculoesquelética. La media de tiempo entre el diagnóstico de EICHc y el inicio de tratamiento con FEC fue de 26 meses (4-79 meses). El esquema de tratamiento fue de 3 días a la semana la primera semana, 2 días a la semana durante 12 semanas, y 2 días al mes hasta completar las 24 semanas de tratamiento. De los 29 pacientes, alcanzaron respuesta cutánea 7 pacientes (26%) en la semana 12 y 9 (31%) en la semana 24. En relación a la disminución del tratamiento corticoideo, 4 pacientes (17%) redujeron $\geq 50\%$ de la dosis de esteroides en la semana 12, y 4 pacientes (17%) no sólo redujeron la dosis sino que dicha disminución de la dosis de esteroides fue a menos de 10 mg/día. En la semana 24, 8 pacientes (33%) redujeron $\geq 50\%$ de la dosis de esteroides, y 6 (25%) disminuyen el tratamiento corticoideo a menos de 10 mg/día. Al evaluar la respuesta de la EICH extracutánea en la semana 12, encontraron respuesta en la mucosa oral en 13 de 20 pacientes (65%), hepática en 3 de 6 pacientes (50%), pulmonar en 3 de 4 pacientes (75%),

ocular en 4 de 15 pacientes (27%), musculoesquelética en 4 de 11 pacientes (36%) y gastrointestinal en 1 de 2 pacientes (50%). Al analizar la respuesta a las 24 semanas, encontraron respuesta en la mucosa oral en 14 de 20 pacientes (70%), hepática en 3 de 6 pacientes (50%), pulmonar en 2 de 4 pacientes (50%), ocular en 7 de 15 pacientes (47%), musculoesquelética en 5 de 12 pacientes (42%) y gastrointestinal en 2 de 2 pacientes (100%). Con los datos observados concluyen que la FEC prolongada beneficia a los pacientes con EICHc refractarios a tratamiento inmunosupresor ⁽³²⁾.

El otro estudio publicado randomizado más importante hasta la fecha es de Flowers y col. ⁽³³⁾. De los 95 pacientes con EICHc con afectación cutánea, refractarios, dependientes y/o intolerantes al tratamiento con esteroides, se dividieron en dos grupos: 48 recibieron su tratamiento estándar con esteroides junto con FEC (grupo 1) y 47 sólo su tratamiento estándar (grupo 2). La evaluación se realizó a las 12 semanas, observando como los pacientes del grupo 1 tenían una mejoría de la piel del 14,5% vs 8,5% del grupo 2. Además en el grupo 1, 12 pacientes (25%) habían disminuido > 50% la dosis de esteroides (en el grupo 2 tan sólo 6, 12,8%), 4 (8,3%) habían disminuido > 50% la dosis de esteroides y habían alcanzado una mejoría cutánea >25% (ningún paciente del grupo 2) y 10 (20,8%) habían disminuido la dosis de corticoides por debajo de 10 mg/día (en el grupo 2 tan sólo 3 pacientes, 6,4%). La respuesta en la piel a la semana 12 fue en el grupo 1 del 40% (17 pacientes) vs 10% (4 pacientes) del grupo 2 ($p=0,002$). En el resto de los órganos reevaluados en la semana 12 también fue mejor la respuesta en el grupo 1 vs grupo 2: ojos 30% vs 7%, cavidad oral 53% vs 27%, articular 22% vs 12%. Las conclusiones de este estudio sugieren que el tratamiento con FEC no sólo favorece la reducción de la dosis de corticoides, incluso la suspensión de los mismos, sino que también mejora la EICH, sobre todo la afectación cutánea. El problema para sacar mejores conclusiones es que el tiempo de estudio fue demasiado corto (12 semanas) para una enfermedad de larga evolución como es el EICHc.

Recientemente Malik y col. ⁽³⁴⁾ han publicado un metanálisis que revisa la seguridad del tratamiento con FEC en pacientes con EICHc refractarios a tratamiento esteroideo. De los 312 estudios analizados, tan sólo 18 cumplían los criterios de selección. En éstos 18 estudios, se estudiaron a 595 pacientes sometidos a tratamiento con FEC, alcanzando RC un 29% (19-42%) de los casos, siendo la respuesta global de la serie del 64% (65-82%). La respuesta por órganos fue de un 74% en piel, 68% en hígado, 60% ocular, 72% oral, 48% pulmonar, 53% gastrointestinal y 64% musculoesquelética. De todos los estudios analizados en tan sólo 4 de ellos se reflejaba la supervivencia al año, siendo ésta del 49% (29-70%). No encontraron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes adultos y niños. Los principales problemas en el desarrollo de este metanálisis fueron tanto los diferentes esquemas utilizados, como la duración del tratamiento. Aun así, pudieron concluir que la FEC es eficaz en los pacientes con EICHc refractarios a esteroides, sobre todo en piel, mucosa oral e hígado, obteniendo menores tasas de respuesta en pulmón y tracto gastrointestinal.

Existen diferentes guías de recomendación para el diagnóstico y manejo de pacientes con EICH como la publicada por la Sociedad Británica de Hematología (BCSH) junto con la Sociedad Británica de Trasplante de Médula ósea (BSBMT) ^(26, 27), la guía de recomendación de la Sociedad Americana de Trasplante de Médula ^(28, 29) o las recomendaciones de la Sociedad Italiana de Aféresis (SIdEM) junto al Grupo Italiano de Trasplante de Médula Ósea (GITMO) ⁽¹⁴⁾. La revisión más reciente sobre el tratamiento con FEC en adultos y niños con EICH acaba de ser publicada por la Sociedad de Fotoféresis de Reino Unido ⁽³⁵⁾.

2.2.1 FEC en pacientes con EICHa

La tasa de respuestas globales en pacientes con EICHa refractarios al tratamiento con esteroides, tanto en pacientes pediátricos como en adultos, se encuentra entorno al 52-100% ⁽²³⁾.

El grupo italiano ha revisado 11 publicaciones, 293 pacientes diagnosticados de EICHa en tratamiento con FEC. La respuesta en piel fue del 81% (218/268), siendo RC un 76%; 66% en hígado, siendo RC 66% (80/121); y 62% del tracto gastrointestinal (78/124) ⁽¹⁴⁾. Las respuestas encontradas en otras publicaciones son similares, siendo mayor el porcentaje de respuesta completas que de respuestas parciales ^(14, 21, 30). La guía ASFA publica una respuesta global en piel entre 66-100%, en hígado entre 27-71% y en el tubo digestivo entre 40-83% ⁽²³⁾. Resultados similares encuentran el grupo de Dall'Amico y col. ⁽³⁶⁾ un metanálisis donde revisaron 31 estudios que utilizaban FEC en pacientes con EICH, 76 pacientes tenían EICHa (1-24 meses de tratamiento) y 204 pacientes EICHc como veremos más adelante. De los 76 pacientes con EICHa, alcanzaron respuesta clínica 83% en piel (siendo RC en 67%), 38% en hígado y un 54% gastrointestinal.

En todas las series revisadas coinciden que la respuesta en los pacientes con EICHa es mayor cuanto antes se inicia el tratamiento ^(14, 30, 36). En el análisis multivariado, se observa que responden mejor cuanto menor es la gravedad de la EICHa (los pacientes con EICHa grado II tienen el 100% de respuesta frente a los pacientes con EICHa grados III-IV tan sólo alcanzan respuesta un 30%) ^(14, 23), incluso algunos autores mencionan que los pacientes con EICHa grado IV no se benefician de este tratamiento ⁽²³⁾. No se ha documentado ningún efecto adverso relevante, ni se ha asociado con un mayor número de complicaciones infecciosas ni de reactivaciones virales, lo cual es de gran importancia en pacientes inmunodeprimidos ⁽¹⁴⁾. En relación con la supervivencia, los pacientes corticorresistentes con EICHa grados II-IV tratados con FEC, tenían mejor supervivencia a los 2 años que cuando recibían tratamiento convencional con esteroides (85 vs 57%) ⁽¹⁴⁾. Estos resultados son similares a otras series publicadas donde la supervivencia libre de eventos al año era superior (79% vs 56-71%) frente a otros tratamientos ⁽²⁴⁾. La mortalidad es menor en los pacientes respondedores a tratamiento con FEC ⁽¹⁴⁾.

2.2.2 FEC en pacientes con EICHc

Dos tercios de los pacientes con EICHc responden al tratamiento con FEC ^(5, 14, 23). El grupo italiano ha revisado 22 estudios, 633 pacientes con EICHc, corticoresistentes, intolerantes o dependientes de esteroides. La respuesta fue completa entre el 35-64% de los pacientes con afectación cutánea, entre el 27-56% de afectación hepática y entre el 47-57% en mucosa oral y gastrointestinal. La respuesta en pulmón es la más baja (0-66%) ⁽¹⁴⁾. En ocho estudios publicados, con 257 pacientes, se disminuyó el tratamiento con corticoides en un 34% de los pacientes, y un 22% pudieron suspenderlo ^(5, 14, 23). La Guía ASFA publica una respuesta parecida, siendo entre 30-100% en los pacientes con afectación ocular, de la mucosa oral y en piel, entre 30-80% en hígado, entre 0-50% en el tubo digestivo y un 50% en pacientes con afectación articular; además estabilizando la función pulmonar de los pacientes con EICHc con bronquiolitis obliterante ⁽²³⁾. Resultados similares encontraron Dall'Amico y col. ⁽³⁶⁾ en un metanálisis donde revisaron 31 estudios que utilizaban FEC en pacientes con EICH, 76 pacientes tenían EICHa, ya comentados, y 204 pacientes EICHc (3-40 meses de tratamiento), alcanzaron respuesta en piel un 75-76% (siendo RC 35-38%), en pulmón el 48%, en hígado el 39% y en mucosa oral el 63%.

Distintos autores señalan que la respuesta es mayor en aquellos pacientes que han recibido entre 12 y 24 semanas de tratamiento ^(5, 14, 23), siendo mayor la tasa de respuesta parcial que las completas, y cuando se inicia precozmente el tratamiento con FEC ^(5, 14, 23, 37). Perseguin y col. ⁽³⁷⁾ además añaden que responden mejor los pacientes con EICHc con inicio precoz (tras 1 semana de tratamiento esteroideo sin respuesta clínica) y cuando la dosis infundida de CMN es al menos de $100 \times 10^6/\text{Kg}$ de peso del paciente, aunque no hay más estudios que nos ayuden a corroborar este dato sobre si hay un umbral de la celularidad infundida que se correlacione con la efectividad de la EICH.

Los pacientes que peor responden a tratamiento con FEC son los que tienen una EICHc extensa, antecedentes de EICHa y/o presencia de trombocitopenia ⁽¹⁴⁾. Además este tratamiento, no tienen mayor predisposición para desarrollar infecciones, ni altera el injerto contra leucemia ^(14, 23).

Los pacientes que responden al tratamiento con FEC, muestran una mayor supervivencia libre de eventos, en adultos 88% vs 18% a los 2 años, y en niños 96% vs 58% a los 5 años ^(5, 14).

Los pacientes con síndrome de solapamiento, es decir, aquellos que se encuentran entre EICHa-EICHc, muestran una peor supervivencia que aquellos que presentan un EICHc clásico, a pesar de iniciar tratamiento precoz con FEC. No existen estudios sobre este síndrome de manera individualizada, ya que suelen estar incluidos en la EICHc ⁽¹⁴⁾.

Actualmente existen abiertos dos estudios fase II prospectivos (NCT00271869 y NCT00048789) que incluyen a pacientes con EICHc de reciente diagnóstico ofreciendo FEC como primera línea de tratamiento ⁽²³⁾.

2.3 Calidad de vida en los pacientes en tratamiento con FEC

Los pacientes con EICHa y/o EICHc, tienen limitaciones para desarrollar una vida normal. En aquellos pacientes tratados con FEC en los que se alcanza una repuesta, ya sea parcial o completa, se consigue a largo plazo reducir la hospitalización y el número de fármacos que deben de tomar. Todo ello origina una mejor calidad de vida del paciente. Actualmente, existen pocos trabajos que desarrollen este tema ⁽¹⁴⁾.

2.4 FEC como profilaxis de la EICH.

Existe muy poca evidencia científica que nos indique que el uso de FEC de manera profiláctica evite y/o retrase la aparición de EICH ^(38, 39).

Foss y col. ⁽³⁸⁾ publicaron un estudio en el observaron que los pacientes a los que se les administraba un régimen de intensidad reducida previo al trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico mediante FEC, pentostatina e irradiación corporal total a dosis reducidas, tenían menos incidencia de EICHa y/o EICHc, y menos incidencia de mortalidad relacionada con el trasplante.

Recientemente Shaughnessy y col. ⁽³⁹⁾ han publicado el papel del tratamiento con FEC como profilaxis de la EICHa grado II-IV, observando como los pacientes a los que se les realizaba FEC previo al acondicionamiento, en este caso mieloablativo, para trasplante de progenitores hematopoyéticos tenían menos riesgo de desarrollar EICHa.

2.5 Evaluación de los pacientes con EICH antes de iniciar tratamiento con FEC

Los pacientes con EICH que van a ser introducidos en un programa de FEC, deben ser cuidadosamente estudiados antes de iniciar este tratamiento. Como mínimo hay que realizar una historia clínica y exploración física completa del paciente. Se debe solicitar un estudio de la función de distintos órganos que puede incluir la cardíaca, renal, hepática y pulmonar (si está afectado el pulmón por la EICH), además de una analítica de sangre completa (hemograma, hemostasia, bioquímica). Todos los pacientes deben firmar un consentimiento informado antes de la primera sesión ⁽¹⁴⁾.

2.6 Recomendaciones para la realización de FEC

Las recomendaciones para no realizar un procedimiento de FEC podemos dividir las en hematológicas y no hematológicas, como se detallan en la tabla 10 ⁽¹⁴⁾.

- Recomendaciones hematológicas

No se recomienda realizar un procedimiento de FEC cuanto la cifra de hemoglobina es inferior a 8 g/dL, y/o la cifra de plaquetas está por debajo de $20 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Tabla 10). El paciente puede recibir soporte transfusional con concentrados de hematíes y/o plaquetas para superar estos mínimos ⁽¹⁴⁾.

No existe evidencia de un número mínimo de leucocitos para que se inicie el procedimiento ⁽¹⁴⁾. Perseghin y col. ^(37, 40) han publicado que el paciente tiene que tener una cifra de leucocitos de al menos $1 \times 10^9/L$. Por otro lado, Kanold y col. ⁽⁴¹⁾ proponen un umbral de 1×10^7 linfocitos por kilo de peso del paciente para poder iniciar el procedimiento.

- Recomendaciones no hematológicas: se resumen en la siguiente tabla ⁽¹⁴⁾.

Tabla 10: Recomendaciones para no realizar FEC en adultos

Hematológicas	No hematológicas
- Hemoglobina < 8 g/dL - Plaquetas < $20 \times 10^3/\mu L$	<i>Absolutas</i> - Afectación cardiovascular y/o renal severa. - Sepsis con afectación cardiaca.
	<i>Relativas</i> : valorar riesgo/beneficio - Inestabilidad hemodinámica. - Infección grave (debe de llevar tratamiento antibiótico previo). - Diarrea grave.

2.7 Esquema de tratamiento de los pacientes con EICH en tratamiento con FEC

Existen diferentes esquemas de tratamiento según el centro donde se realiza el procedimiento de FEC ^(5, 14, 23). El más utilizado es de 2 sesiones a la semana hasta alcanzar máxima respuesta, aunque hay centros que realizan al inicio hasta tres procedimientos semanales ⁽¹⁴⁾. De acuerdo a la Guía ASFA, el esquema de tratamiento utilizado en pacientes con EICHa es de 2 procedimientos a la semana hasta que el paciente responda y luego se reduce a 2 procedimientos a semanas alternas. En los pacientes con EICHc se realizan 2 procedimientos a la semana hasta alcanzar respuesta o se lleguen a 8-12 semanas de tratamiento, y luego se reduce a 2 procedimientos cada 2 ó 4 semanas hasta alcanzar una respuesta óptima ⁽²³⁾. La evaluación se realiza semanalmente en EICHa y cada 8-12 semanas en EICHc ⁽¹⁴⁾. Existen publicaciones con esquemas de tratamiento diferentes como por ejemplo, 2 procedimientos a la semana, durante 4 semanas, 2 procedimientos cada 2 semanas durante 2 meses y 2 procedimientos al mes durante 6 meses, o hasta alcanzar máxima respuesta ⁽¹⁴⁾.

2.8 Efectos adversos del tratamiento con FEC en pacientes con EICH

Los efectos adversos secundarios al tratamiento con FEC son mínimos y muy bien tolerados. Los más frecuentes son los relacionados con el procedimiento de aféresis, como las náuseas, la fiebre, el dolor de cabeza, la hipotensión arterial y/o las parestesias. Todos ellos son efectos adversos muy leves, de fácil manejo y resolución, tal como se detallará más adelante ^(5, 14).

Los problemas relacionados con el CVC más frecuentes son la obstrucción, por polímeros de fibrina, o más rara vez por la presencia de trombosis en el catéter, y las infecciones ^(14, 19).

En relación a los efectos adversos a largo plazo, actualmente no hay estudios realizados sobre la incidencia de malignidad ni de aumento del riesgo de infección ⁽¹⁴⁾.

2.9. Parámetros de seguridad en pacientes con EICH tras FEC

En aquellos casos en los que el procedimiento se realiza mediante un método "Off-line", deben realizarse cultivos del producto tratado (para anaerobios, aerobios y de hongos) extraídos en la campana de flujo laminar antes de reinfundirse al paciente, y controles estériles de 8-MOP al menos en 2 procedimientos de FEC no consecutivos ⁽¹⁴⁾.

Algunos autores sugieren la realización de test que analicen la viabilidad de los linfocitos "in vitro" a las 72-96 horas de la manipulación, considerando adecuado el producto infundido si la viabilidad obtenida es menor del 50% ⁽¹⁴⁾.

3. Fotoféresis extracorpórea en pediatría.

En niños son muy pocos los trabajos publicados de FEC. Las dificultades técnicas del procedimiento de aféresis y los pocos centros especializados en este tipo de tratamiento son los principales problemas que nos podemos encontrar.

3.1 Aspectos técnicos del procedimiento de aféresis en pediatría.

La experiencia en la realización de aféresis terapéuticas en población pediátrica es menor en la literatura científica que en los adultos. Muchas de las decisiones técnicas y prácticas que se han ido adquiriendo a lo largo de los años, se han extrapolado de trabajos y guías clínicas de actuación de adultos (19, 20, 40, 42, 43).

Los principales problemas que se nos plantean al realizar un procedimiento de aféresis en niños son los accesos vasculares, el volumen extracorpóreo del paciente, la anticoagulación y los fenómenos de hipotermia.

3.1.1 Acceso vascular

Para poder realizar una aféresis terapéutica, es muy importante que el paciente tenga un buen acceso vascular. Los niños, sobre todo los pacientes menores de 20 Kg, no suelen tener venas periféricas con un diámetro suficiente para realizar el procedimiento de aféresis. En estos casos es recomendable la canalización de un catéter venoso central, donde la longitud, el diámetro y la posición de la punta del catéter dependerán del tamaño del paciente (14, 17, 19, 20, 40, 41, 43, 44).

En este punto vamos a analizar los diferentes tipos de accesos vasculares y los principales problemas que podemos encontrarnos.

- Tipos de accesos vasculares:

Existen diferentes tipos de accesos vasculares para la realización de aféresis terapéuticas en el paciente pediátrico: las venas periféricas, los catéteres venosos centrales y las fístulas arteriovenosas. La elección de un tipo u otro depende del procedimiento de aféresis terapéutica, las características del paciente (edad, peso, patología a tratar) y la duración del tratamiento (14, 19, 20).

1. Fístulas arteriovenosas: se utilizan cuando el tratamiento tiene una duración de meses o años. Actualmente no se utilizan para la colecta en el tratamiento de FEC.
2. Venas periféricas: tan solo en un 6,6% de los pacientes pediátricos (dependiendo de los distintos centros) se canaliza este tipo de acceso vascular (19). Este porcentaje es tan bajo por el pequeño calibre de sus vasos, siendo lo más frecuente la colocación de un CVC. Las venas de elección son las antecubitales. Las vías son de silicona o teflón de unos 16-19 g (14, 20, 40, 41), para permitir un flujo máximo de sangre de 80 cm³/mn. Son fáciles de canalizar, no se requiere ningún tipo de anestesia y tienen pocas complicaciones, siendo las más frecuentes la

infección, las molestias en la zona de canalización, la trombosis y, a largo plazo, la esclerosis de las venas canalizadas ^(14, 20).

3. Catéteres venosos centrales (CVC): son la mejor opción en la población pediátrica ⁽¹⁹⁾. El diámetro mínimo recomendado para poder utilizarse en aféresis terapéuticas debe ser entre 7-10 Fr ⁽¹⁴⁾, para permitir un flujo de sangre adecuado 2-5 ml/kg/mn ⁽¹⁴⁾ ó 1 ml/kg de peso del paciente ⁽⁴⁰⁾. Se localizan principalmente en la vena femoral, en la vena subclavia o vena yugular. En los pacientes oncológicos, no es recomendable utilizar el porth-a-cath para realizar la colecta porque no permite mantener flujos de sangre adecuados ⁽¹⁴⁾.

Según la duración del tratamiento, podemos diferenciar dos tipos de CVC: los catéteres venosos centrales no tunelizados y los catéteres venosos centrales tunelizados ^(14, 20, 41).

- CVC no tunelizados: son catéteres semirrígidos, generalmente de poliuretano y fáciles de insertar. En general, este tipo de catéteres se utilizan para tratamientos cortos. Tienen la ventaja de no requerir anestesia general ni quirófano para ser colocados y pueden retirarse fácilmente. Independientemente de la localización es más frecuente la infección en este tipo de catéteres que en los no tunelizados, sobre todo si intentamos prolongar su uso. Las complicaciones relacionadas con su colocación son escasas, siendo las más frecuentes la hemorragia (2-14%), las arritmias cardíacas, el neumotórax (sobre todo si se localiza en la vena subclavia), la mal posición, la trombosis (25% en las venas femorales) y la estenosis (siendo en un 10-26% en la vena yugular interna y un 42% en la vena subclavia) ⁽²⁰⁾.

- CVC tunelizados: están diseñados para tratamientos más largos (semanas o meses). Normalmente son de silicona, más biocompatibles y flexibles. Además tienen menos riesgo trombótico y de infección que los no tunelizados. Este tipo de catéteres tienen que ser colocados con anestesia general mediante radiología intervencionista, localizándose principalmente en la vena yugular interna, por la facilidad de inserción por la vena cava superior, disminuyéndose así el riesgo de disfunción ^(14, 20).

- Complicaciones relacionadas con los accesos venosos:

Las principales complicaciones que podemos encontrarnos son:

- Posicionales: son por mala orientación de la punta del catéter y/o acodamiento. Aparece dentro de las 2 primeras semanas y pueden evitarse con la colocación mediante radiología intervencionista ⁽²⁰⁾ o a veces cambiando la colocación del paciente. Este tipo de complicación origina problemas de presión, dificultando el mantenimiento del flujo de salida y/o de entrada de sangre al paciente en un porcentaje muy alto de casos (22,6%) ⁽¹⁹⁾.

- Obstrucción: las causas más frecuentes de disfunción de catéter son secundarias a la obstrucción (20% de los casos), ya sea por trombosis del catéter (2,4%) o por el acúmulo de fibrina ^(19, 20).
- Infección del catéter: un 16,1% de los pacientes desarrollan infección del catéter ⁽¹⁹⁾. Es una de las causas más frecuentes de pérdida de catéter. Ante la sospecha de infección, según el aspecto del CVC y la sintomatología del paciente, se puede retirar o mantener, administrándose siempre un tratamiento antibiótico adecuado. Los organismos más frecuentemente aislados son los Gram positivos en un 52-84% de los casos, siendo el más frecuente el *S. epidermidis*. Los organismos Gram negativos aparecen entre 27-36% y las infecciones fúngicas en menos del 10% ⁽²⁰⁾. Perotti y col. ⁽⁴⁴⁾ publicaron una serie de 26 pacientes, de los que desarrollaron infección de catéter 3 de 17 pacientes con EICHa (17,6%) y 2 de 9 pacientes con EICHc (22,2%).
- Otras complicaciones que pueden aparecer son los hematomas (1-2%), sangrado (8,1%) y/o dolor (18,3%) en el punto de punción, la ruptura de la vena al canalizarla, o el angioespasmo, entre otras.

3.1.2 Anticoagulación

En todos los procedimientos de aféresis hay que anticoagular el circuito extracorpóreo para evitar que éste se trombose. El anticoagulante más utilizado es el Ácido cítrico anhidro, Citrato trisódico dihidrato y Dextrosa monohidrato (ACD-A) recomendado a un ratio de 1/16 ó 1/20, sólo o en combinación con heparina (50 UI/Kg) para disminuir el riesgo de hipocalcemia ⁽⁴⁰⁾. Este anticoagulante previene la activación de la cascada de la coagulación, quelando el calcio del plasma, pudiendo ocasionar sintomatología secundaria a la hipocalcemia en los pacientes.

En los niños, como el citrato es metabolizado más lentamente, alcanzan mayor concentración de ACD-A en un menor volumen sanguíneo, presentando sintomatología secundaria a la hipocalcemia en un 15,2% (en un 9,7% de los casos está documentada y en un 5,5% se sospecha). Los principales síntomas son las náuseas acompañadas o no de vómitos (21%), parestesias (14%), dolor abdominal (16,1%), palidez (12,4%), dolor de cabeza (9,1%), mareos (4,3%) o diaforesis (3,2%). Para evitarla, durante el procedimiento de aféresis, es recomendable administrar una solución de reposición con gluconato cálcico al 10% ^(19, 40, 43).

3.1.3 Volumen extracorpóreo y cebado del equipo

Hay que tener en cuenta que en los procedimientos de aféresis parte del volumen circulante del paciente, entre 200-400 ml, pasa a formar parte del circuito extracorpóreo y unos 30-66 ml en el calentador ⁽³⁰⁾. En los adultos la pérdida temporal de 200-400 ml en el circuito extracorpóreo suele ser bien tolerada. Pero en los niños, la pérdida de más de 10-15% de la volemia puede

dar lugar a manifestaciones clínicas importantes como la hipoxia o la hipovolemia ^(19, 40). Para evitarlo, en los pacientes de menos de 40 Kg, es preferible utilizar un separador celular de flujo continuo para minimizar esta sintomatología ⁽⁴⁰⁾. Además, en los pacientes que pesan menos de 20-25 Kg se recomienda el purgado del sistema con concentrados de hematíes ABO compatibles, irradiados y leucoreducidos. De esta manera no sólo reemplazamos el volumen sanguíneo que se encuentra en el sistema, sino que también mantenemos al paciente con un hematocrito superior al 30% antes y durante la colecta ^(19, 40, 43).

3.1.4 Hipotermia

Se ha visto que durante el procedimiento de aféresis los pacientes pueden sufrir un descenso de la temperatura corporal, como consecuencia del enfriamiento que sufre la sangre tras pasar por el circuito extracorpóreo. Los síntomas de hipotermia son más acusados en los niños pequeños, por su menor volumen corporal. Para evitarlo, normalmente se coloca un calentador en la línea de retorno de sangre al paciente, asegurándonos así que se infunde la sangre al paciente a 37°C ^(19, 40).

3.1.5 Unidad de aféresis

El tratamiento de FEC, tiene una duración media de 6 a 8 horas, siendo la duración de la colecta entre 3 y 4 horas. Durante este tiempo el niño debe permanecer tranquilo y entretenido para facilitar el procedimiento, siendo en ocasiones difícil de conseguir. Por eso es importante su realización en centros especializados, con experiencia y con personal que sea capaz de crear un ambiente de trabajo cercano al niño ^(14, 17, 19, 40, 43).

3.2 Indicaciones de fotoféresis extracorpórea en pediatría.

A diferencia de los adultos, los niños se encuentran en periodo de crecimiento y desarrollo, tanto físico como intelectual, por lo que tratamientos a largo plazo (como por ejemplo el tratamiento inmunosupresor en pacientes con EICH) puede provocar alteraciones importantes en el crecimiento, en el metabolismo óseo, hormonales, y/o nutricionales, entre otras. Además de manera específica, el uso de corticoides a altas dosis, tratamiento de primera línea para la EICH, puede tener consecuencias graves en los pacientes, siendo muy importante intentar disminuir y/o suspenderlos lo antes posible. Por eso es necesario desarrollar otras estrategias terapéuticas no farmacológicas capaces de disminuir este tipo de complicaciones ^(18, 43).

Las indicaciones de FEC aprobadas en pediatría actualmente son en tan sólo dos patologías: en el tratamiento de la enfermedad injerto contra huésped aguda (EICHa) y/o crónica (EICHc), como veremos en el siguiente apartado, y para el rechazo del trasplante de órgano sólido (profilaxis y tratamiento del rechazo de corazón y de pulmón) ^(23, 40).

Aunque actualmente no está aprobado en otras patologías, existe un estudio sueco randomizado y a doble ciego (usando un simulacro de aféresis

en el grupo control) de 49 niños con diabetes mellitus tipo I de inicio reciente. En esta serie, demuestran que el grupo tratado con FEC necesitaba menos insulina a igual tasa de hemoglobina glicosilada comparándolo con el grupo control. El tratamiento se realizó durante 3 meses y los efectos seguían detectándose a los 3 años de la randomización, pese a que el grupo tratado tenía una diabetes más severa que el grupo control ⁽⁴⁵⁾. Posteriormente ese mismo grupo observó que la realización de FEC era capaz de mantener la actividad de los linfocitos T reguladores induciendo inmunotolerancia en niños con diabetes mellitus tipo 1 de reciente diagnóstico ⁽⁴⁶⁾.

4.- Fotoféresis extracorpórea en el paciente pediátrico con enfermedad injerto contra huésped

A pesar de ser un tratamiento con más de 10 años de experiencia existen muy pocos trabajos publicados sobre FEC en pacientes pediátricos con EICH. Los estudios randomizados más importantes publicados hasta la fecha son en series de pacientes adultos con EICHc, ya comentados en apartados anteriores ^(32, 33). La ausencia de guías de actuación y seguimiento, criterios de respuesta al tratamiento, las dificultades técnicas del procedimiento de aféresis (los problemas con el acceso vascular o el menor volumen sanguíneo, detallados en apartados anteriores), junto a la heterogeneidad de los pacientes, hace que sean muy pocos los centros con experiencia para realizar este tratamiento ^(14, 18, 37, 40-43, 47-52).

4.1 Indicaciones del tratamiento con FEC en pacientes pediátricos con EICH

Según la Guía ASFA 2013, las indicaciones de tratamiento con fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos con EICH son iguales que en la población adulta (Tabla 2) ^(23, 40).

Distintos autores coinciden que el inicio precoz del tratamiento con FEC en niños consigue mejores repuestas ^(17, 37, 41-43). En general, en el caso de EICHa se recomienda fototerapia cuando no responden a una primera línea de tratamiento, es decir, cuando tras haber iniciado tratamiento progresa la enfermedad a los 3-4 días, no se observan cambios a los 7 días, o presentan respuesta incompleta a los 14 días, o cuando presentan una reactivación de la EICHa ^(14, 23, 26, 27, 40, 41, 43, 44, 48).

En los pacientes con EICHc se recomienda iniciar FEC cuando son corticorresistentes, corticodependientes o con EICH grave ^(14, 23, 26, 27, 40, 41, 43, 44, 48). Las indicaciones varían según las series publicadas. Perseguin y col. ⁽³⁷⁾ recomiendan iniciar tratamiento con FEC en los pacientes con EICHc que no responden a esteroides después de 7 días, y en pacientes refractarios a tratamiento esteroideo y ciclosporina, que no hayan recibido previamente timoglobulina y con una cifra de leucocitos superior a $1 \times 10^9/L$. Berger y col. ^(42, 48), incluyen en su trabajo a los pacientes que no responden a esteroides en una semana con o sin ciclosporina, que no hayan recibido inmunoglobulina antitimocítica (ATG), ni inmunosupresores los 14 días previos, ni anticuerpos monoclonales el mes anterior, ni FEC previamente. Kanold y col. ⁽⁴¹⁾ además añaden a aquellos pacientes que no responden a otros tratamientos después de 2 meses, los pacientes con más de tres líneas de tratamiento sin respuesta, pacientes con mala tolerancia al tratamiento y pacientes con EICHc limitada. En la tabla 11 se resumen las series pediátricas más importantes.

4.1.1 FEC en pacientes pediátricos con EICHa

Messina y col. ^(42, 50) publicaron el primer estudio multicéntrico en 33 pacientes pediátricos con EICHa resistentes al tratamiento convencional, sometidos a FEC. La duración media del tratamiento con FEC fue de 74 días,

con una media de 8 ciclos, iniciado con una media de 45 días postrasplante de progenitores hematopoyéticos. Al finalizar el tratamiento, 18/33 (54%) de los pacientes se encontraban en RC, 7/33 (21%) en RP y 8/33 (24,3%) no respondieron. La respuesta fue evaluada en todos los órganos, siendo la respuesta del 76% en piel, 60% en hígado y 75% en el tracto gastrointestinal. Al finalizar el tratamiento con FEC, 8 pacientes suspendieron el tratamiento inmunosupresor y 7 pudieron reducir la dosis. A los 5 años de seguimiento, la supervivencia libre de eventos era del 69% para los pacientes respondedores frente al 12% de los pacientes no respondedores.

Kanold y col.⁽⁴¹⁾ publicaron una serie de 27 pacientes con EICH grave, 12 EICHa y 15 con EICHc. La mediana de procedimientos por paciente fue de 23. De los 12 pacientes con EICHa, 7 alcanzaron RC y 3 RP. De los 10 pacientes respondedores, en 9 se pudo descender el tratamiento corticoideo al 50% después de 6 sesiones, llegándose a suspender en 6 pacientes. La mediana de seguimiento tras finalizar el tratamiento con FEC fue de 16 meses, encontrándose en ese momento, 8 pacientes (75%) libre de eventos y en 2 casos desarrollaron EICHc. Teniendo en cuenta sus resultados nos recomiendan utilizar tratamiento con FEC como primera línea de tratamiento en pacientes con EICHa grado IV y como segunda línea de tratamiento en pacientes con EICHa grado II y III resistentes a esteroides.

González y col.^(42, 52) publicaron la serie española más importante, 21 pacientes con EICHa refractarios a tratamiento esteroideo tras 1 semana, sometidos a tratamiento con FEC. El grado de afectación de EICHa era en 6 pacientes grado II, 4 pacientes grado III y 11 pacientes grado IV. La media de procedimientos por paciente fue de 6, durante una media de 1 mes. La media de seguimiento por paciente fue de 167 días. De los 21 pacientes, 11 alcanzaron RC y 8 RP, siendo la respuesta en piel el 81%, en hígado en el 77%, en mucosas en un 64%, en intestino en un 59%, en ojos en un 59% y en pulmón en un 45%. El número mínimo de procedimientos para ver respuesta clínica fue de 2.

El estudio retrospectivo con mayor número de pacientes publicado, es el de Perotti y col.^(42, 44). Estudiaron a 50 pacientes con EICHa refractarios a esteroides tras una semana de tratamiento. Los pacientes recibieron como mínimo 10 sesiones de tratamiento con FEC. El esquema de tratamiento fue de 2 ó 3 días a la semana, a días alternos hasta alcanzar respuesta; luego 2 procedimientos a la semana, durante 2 semanas; 2 procedimientos semanas alternas, durante 3 semanas; y 2 procedimientos al mes hasta alcanzar máxima respuesta. Si a las 4 semanas de tratamiento no se observaba respuesta clínica, los pacientes abandonaban el programa. En los pacientes respondedores, pudieron ir disminuyendo el tratamiento esteroideo. De los 50 pacientes, 34 alcanzaron respuesta (68%), siendo 83% en piel, 87,5% en mucosa oral, 72,7% en intestino y 66,7% en hígado. En este artículo, concluyen que obtienen mejores resultados en los pacientes sometidos a tratamiento con FEC cuando se inicia de forma precoz (pacientes con EICHa que no responden a tratamiento esteroideo a la semana de haberlo iniciado); además observan que la duración de éste tratamiento debería ser hasta alcanzar máxima respuesta, entendiendo como máxima respuesta, el descenso

o suspensión del tratamiento esteroideo y/o respuesta clínica. En caso de no encontrar respuesta a las 4 semanas se debería abandonar el tratamiento con FEC.

4.1.2 FEC en pacientes pediátricos con EICHc

Mesina y col.^(42, 50) también publicaron un estudio retrospectivo de 44 pacientes con EICHc, sometidos a tratamiento con FEC. De los 44 pacientes, 34 (77%) sobrevivieron y un 59% de los casos alcanzaron algún tipo de respuesta. Al finalizar el tratamiento 15 pacientes (44%) alcanzaron RC y 10 pacientes (29%) RP. La respuesta se observó un 70% en piel, un 60% en hígado, un 47,6% en intestino y un 44% en pulmón, siendo mejor en los pacientes que iniciaron de manera precoz el tratamiento. En 15 pacientes (44%) se pudo suspender el tratamiento y en 10 pacientes (29%) disminuir la dosis. La evaluación de la respuesta clínica según la escala de Lansky/Karnofsky fue del 60 al 90%. La supervivencia libre de eventos a los 5 años fue mejor en los pacientes respondedores (respondedores 96% vs no respondedores 58%).

Perseghin y col.⁽³⁷⁾ publicaron una serie de 25 pacientes con EICHc, que tras recibir y completar el tratamiento con FEC, respondieron 20 (80%), siendo 11 RC y 9 RP. Todos los pacientes tuvieron una respuesta completa en intestino y ocular, del 88% en piel, del 78% en mucosas y del 67% en hígado. Al realizar un estudio multivariante de las posibles causas de no respuesta de los pacientes, encontraron que el inicio tardío del tratamiento con FEC perjudicaba la respuesta mantenida del paciente.

Kanold y col.⁽⁴¹⁾, de su serie de 27 pacientes, 15 presentaban EICHc grave, alcanzando 4 RC, 7 RP y 4 no mejoraron. De los 11 pacientes respondedores, 9 se encontraban con tratamiento esteroideo antes de empezar el tratamiento con FEC, pudiéndose disminuir al 50% de la dosis tras realizar 12 procedimientos, y suspendiéndose en 3 pacientes. La mediana de seguimiento fue de 52 meses, encontrándose 5 pacientes fallecidos (67%), siendo 2 de ellos respondedores. De los 10 supervivientes, en 2 persistía la EICHc activa, 2 presentaban alteraciones de pigmentación de la piel y 6 se encontraban libre de eventos. En los pacientes con EICHc, nos recomendamos utilizar tratamiento con FEC como primera línea en pacientes con EICHc limitada, y como segunda línea de tratamiento en los casos más graves.

Perotti y col.^(42, 44) también en su serie analizó 23 pacientes con EICHc extensa sometidos a tratamiento con FEC. De los 23 pacientes, respondieron un 93% en piel, un 100% en hígado, un 80% en la mucosa oral y un 75% en el intestino; y fallecieron por causas distintas a su enfermedad de base 2/16 (12,5%) de los respondedores y 3/7 (42,9%) de los no respondedores. Según estos autores es importante el inicio precoz del tratamiento con FEC en combinación con el tratamiento inmunosupresor hasta alcanzar máxima respuesta, intentando disminuir, si se puede, la dosis del tratamiento inmunosupresor. En esta serie, los pacientes respondedores, finalizaron el tratamiento con FEC a las 8 semanas^(42, 50).

No existen datos de síndrome de solapamiento en las series pediátricas⁽¹⁴⁾.

Tabla 11: Series pediátricas de tratamiento con FEC en pacientes con EICH

Autor (año)	Pacientes nº (agudo/crónico)	Respuesta EICHa	Respuesta EICHc	Supervivencia EICHa	Supervivencia EICHc	Referencia
Salvaneschi (2001)	9/14	7/9	9/14	7/9	11/14	15
Halle (2002)	0/8	0	7/8 piel, 4/6 hígado, 8/8 intestino	0	6/2	54
Messina (2003)	33/44	25/33	25/44	19/33	36/44	50
Duzovali (2007)	0/7	0	3/7	0	4/7	53
Kanold (2007)	12/15	10/12	11/15	8/12	10/15	41
Perseghin (2007)	0/25	0	20/25	0	19/25	37
Berger (2007)	15/10	9/15	5/10	10/15	8/10	48
Calore (2008)	15/0	11/15	NE	13/15	NE	42
Merlin (2010)	12/0	10/12	NE	7/12	NE	42
González (2010)	21/6	11/21	3/6	12/21	4/6	52
Perotti (2010)	50/23	34/50	16/23	22/50	18/23	44

NE: no estudiado, FEC: fotoféresis extracorpórea, EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica

4.2 Calidad de vida en los pacientes pediátricos en tratamiento con fotoféresis extracorpórea

Al igual que en los adultos, los pacientes pediátricos con EICH tienen ciertas limitaciones para llevar una vida normal. Por eso, por poca respuesta que logremos con este tratamiento, algo mejora su actividad diaria. Además la reducción e incluso suspensión de tratamiento esteroideo y/o inmunosupresor, y la disminución de ingresos hospitalarios favorece su calidad de vida. Son necesarios más estudios para poder abordar este tema ^(14, 40).

4.3 FEC en pacientes pediátricos como profilaxis de la EICH.

No existen trabajos sobre que la FEC pueda prevenir la aparición de EICH ^(14, 43).

4.4 Evaluación de los pacientes pediátricos con EICH previa a la introducción en un programa

(14) La evaluación inicial es igual que en los adultos (ver apartado anterior)

4.5 Recomendaciones para la realización de FEC en pediatría

Las recomendaciones en pediatría son las mismas que en pacientes adultos, con algunas particularidades (Tabla 12) (14).

En relación a las recomendaciones hematológicas, al igual que en la población adulta no se recomienda realizar un procedimiento de FEC cuanto la cifra de hemoglobina es inferior a 8 g/dL y/o la cifra de plaquetas está por debajo de $20 \times 10^3/\mu\text{L}$ (14, 43, 44), incluso algunos autores proponen por debajo de $15 \times 10^3/\mu\text{L}$ (41) (Tabla 12). Los pacientes puede recibir soporte transfusional con concentrados de hematíes y/o plaquetas para superar estos mínimos (14, 41, 44), aunque se recomienda evitarla justo antes del procedimiento (41). En relación al número mínimo de leucocitos, no existe evidencia de que deba haber un número mínimo de leucocitos para empezar el procedimiento (14), aunque hay autores que inician el procedimiento cuando la cifra de leucocitos es al menos de $1 \times 10^9/\text{L}$ (37, 40, 49). Kanold y col. (41) propone un umbral de 1×10^7 linfocitos por kilo de peso del paciente para poder iniciar el procedimiento.

Las recomendaciones no hematológicas también se resumen en la tabla 12. En caso de pacientes pequeños y críticos con incapacidad de poder llevar a cabo un procedimiento de aféresis se podría plantear la realización de un mini-“buffy-coat”. Este consiste en la extracción al paciente de 5-8 ml por kilo de peso de sangre periférica, al que añadiremos el 8-MOP y lo irradiaremos para posteriormente reinfundirlo al paciente. Pero actualmente todavía se necesitan más estudios para poder estandarizar este tipo de tratamiento (55).

Tabla 12: Recomendaciones para no realizar FEC en pediatría

Hematológicas	No hematológicas
<ul style="list-style-type: none"> - Hemoglobina <8 g/dL - Plaquetas <$20 \times 10^3/\mu\text{L}$ 	<p><i>Absolutas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Afectación cardiovascular y/o renal severa. - Sepsis con afectación cardiaca.
<p>Algunos autores:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plaquetas <$15 \times 10^3/\mu\text{L}$ - Leucocitos >$1 \times 10^9/\mu\text{L}$ 	<p><i>Relativas: Valorar riesgo/beneficio</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Inestabilidad hemodinámica. - Infección grave (debe de llevar tratamiento antibiótico previo). - Diarrea grave.

4.6 Esquema de tratamiento de los pacientes pediátricos con EICH en tratamiento con FEC

Los esquemas de tratamiento de FEC utilizados en pacientes pediátricos con EICH no se encuentran estandarizados. Cada centro utiliza el esquema que más se adapta a sus posibilidades. La Guía ASFA 2013 propone realizar 2 días consecutivos (un ciclo) cada una o dos semanas. En caso de EICHa, se

realiza un ciclo a la semana hasta que la enfermedad responda y posteriormente se reduce a semanas alternas antes de interrumpir el tratamiento. Para la EICHc, se realiza un ciclo a la semana hasta obtener respuesta o se alcancen las 8 ó 12 semanas de tratamiento, y luego se reduce a cada 2 ó 4 semanas hasta alcanzar una respuesta óptima ^(23, 43).

Perotti y col. ⁽⁴⁴⁾ sugieren realizar en los pacientes con EICHa 2 ó 3 días alternos a la semana hasta alcanzar mejoría, y luego 2 procedimientos a la semana durante 2 semanas; 2 procedimientos a semanas alternas 3 semanas (6 semanas); y finalmente 2 procedimientos al mes. En los pacientes con EICHc realizan 2 procedimientos a la semana durante 2 semanas; luego 2 procedimientos a semanas alternas 3 semanas (6 semanas); y finalmente 2 procedimientos al mes hasta alcanzar mejoría o disminución /suspensión del tratamiento inmunosupresor. Kanold y col. ⁽¹⁷⁾ proponen a los pacientes con EICHa, 3 procedimientos a la semana a días alternos hasta encontrar mejoría; y luego 2 días seguidos cada 2 semanas hasta completar 3 meses de tratamiento. Perseguin y col. ⁽³⁷⁾ realizan 2 procedimientos a la semana hasta alcanzar respuesta, y luego 2 procedimientos cada 2 semanas durante 1 mes, con un número de procedimientos total por paciente de 20. Berger y col. ⁽⁴⁸⁾ tratan 2 días seguidos a la semana, durante el primer mes; el segundo y tercer mes de tratamiento 2 días seguidos a la semana cada 2 semanas; y finalmente 2 días seguidos al mes, durante 4-6 meses. La evaluación la realizan a los 3 ó 6 meses del tratamiento.

En los pacientes con EICHc, aun existe más variedad en los esquemas de tratamiento utilizados. Algunos de ellos son: 2 días seguidos cada 2 semanas durante 3 meses, y si mejoran, pasan a 2 días a la semana seguidos cada 3 semanas durante 3 meses. Otros esquemas son 2 días a la semana cada 2 semanas, y luego 1 día a la semana, semanal o quincenalmente durante 3 meses. O incluso 2 procedimientos a la semana durante 3 semanas, luego 2 procedimientos a la semana cada 2 semanas durante 1 mes, y finalmente 2 procedimientos mensuales ⁽¹⁷⁾.

De entre todos los esquemas de tratamiento, hay autores que destacan que es más efectivo realizar dos procedimientos dos días seguidos que a días alternos. Este esquema no es operativo en niños, sobre todo en los pacientes de bajo peso. En estos casos se prefiere realizar el tratamiento a días alternos, para evitar la mala tolerancia a los cambios de volumen sanguíneo, las alteraciones iónicas y las alteraciones hematológicas ⁽¹⁷⁾.

La duración óptima de éste tratamiento no está tampoco establecida ⁽⁴³⁾. La Guía ASFA recomienda realizar el tratamiento hasta alcanzar respuesta óptima ⁽²³⁾. La duración media en EICHa es de 4,6 meses y de 6-12 procedimientos por paciente. En los pacientes con EICHc es necesario un mínimo de 6 meses para alcanzar respuesta ⁽⁴⁰⁾. Perotti y col. ⁽⁴⁴⁾ recomienda continuar hasta alcanzar máxima respuesta, suspendiéndose el tratamiento si no hay respuesta a las 4 semanas en EICHa y a las 8 semanas en EICHc. Perseguin y col. ⁽⁴⁰⁾ sugieren un duración entre 6 y 8 meses de tratamiento.

4.7 Efectos adversos del tratamiento con FEC en pacientes pediátricos con EICH

Los efectos adversos del tratamiento de FEC en pacientes pediátricos son leves ^(17, 18, 40, 41, 43, 44, 50). Los relacionados con el procedimiento de aféresis ya los hemos comentado en apartados anteriores. En relación a la pérdida de plaquetas y hematocrito tras el procedimiento, tan sólo precisan soporte transfusional con concentrados de hematíes en un 8% de los pacientes y en un 2% de plaquetas ^(17, 41, 48).

Este tratamiento no es una terapia inmunosupresora ⁽¹⁸⁾. No aumenta el riesgo de infección, ni de reactivación viral; tampoco aumenta la recaída de la enfermedad de base ^(15, 17, 18, 40, 41, 43, 48, 53). No se han encontrado efectos adversos secundarios a la reinfusión del producto tratado a largo plazo ⁽¹⁷⁾; a corto plazo pueden producir signos de hipervolemia como hipertensión arterial y fiebre.

4.8 Parámetros para monitorizar la respuesta en pacientes pediátricos con EICH tras FEC

Actualmente siguen sin existir parámetros estandarizados para monitorizar, y así poder predecir la respuesta al tratamiento con FEC en los pacientes pediátricos con EICH ^(41-44, 50).

Perotti y col. ⁽⁴⁴⁾ en su revisión concluyen que no existe asociación entre ningún parámetro clínico o de laboratorio para saber la respuesta de un paciente al tratamiento con FEC. En su serie, solo encontraron que la disminución de la dosis de esteroides durante los 30 primeros días en pacientes con EICHa era un factor de buena respuesta al tratamiento.

En relación al inicio precoz del tratamiento, son varios los autores que sugieren que se consiguen mejores respuestas ^(17, 37 41-43). Perseguin y col. ⁽³⁷⁾ observaron que el inicio precoz del tratamiento con FEC en los pacientes con EICHc, es fundamental para alcanzar respuesta clínica. Además proponen que el número de CMN tratadas e infundidas puede relacionarse también con la respuesta del paciente; cuando al paciente se infunden $100 \times 10^6/\text{Kg}$ de CMN, disminuyen un 20% la posibilidad de fallo del tratamiento, aunque estos resultados no son estadísticamente significativos. Son necesarios más estudios para confirmarlo.

Son varios los autores que coinciden que los pacientes pediátricos con EICH que responden al tratamiento con FEC tienen mayor supervivencia ^(18, 23, 42-44, 46, 50). La tasa de respuesta global en los pacientes con EICHa refractarios a esteroides está entorno al 52-100%, igual que en los adultos ⁽²³⁾. Berger y col. ⁽⁴⁸⁾ publican en su serie que los pacientes con EICHa respondedores tienen una supervivencia del 59% frente al 11% de los no respondedores. Dentro de los respondedores, los pacientes con menor grado de enfermedad o aquellos que han recibido menos líneas de tratamiento responden mejor. En los pacientes con EICHc la supervivencia también viene determinada por el grado de afectación, siendo peor respondedores aquellos pacientes con más del 70% de afectación. En niños, a diferencia de los adultos, la afectación intestinal no indica mala respuesta al tratamiento ^(15, 17, 41). Locatelli y col. ⁽⁴³⁾ publican en su

revisión que los pacientes pediátricos sometidos a tratamiento con FEC con EICHc y afectación pulmonar (bronquiolitis obliterante) son los que tienen una peor respuesta, y aquellos con afectación cutánea, ya sea EICHa o EICHc responden mejor al tratamiento.

Según las series, la respuesta en los pacientes con EICHc oscila entre 33-93%, siendo la supervivencia libre de eventos a los 5 años en los respondedores del 96% frente a los 58% en los no respondedores ⁽¹⁸⁾. En niños con EICHc y afectación ocular, la respuesta al tratamiento con FEC es en torno al 50%, un 34% de los pacientes disminuyen la dosis de esteroides y un 22% los suspenden dentro del primer año de tratamiento con FEC. Tienen peor respuesta los pacientes con EICHc extenso, si han padecido un EICHa previo y/o si tienen trombocitopenia ⁽¹⁴⁾.

En relación a la mortalidad relacionada con el trasplante, Berger y col. ⁽⁴⁸⁾ destacan que la principal causa de muerte es la progresión de la EICH (un 28% en su serie). Además son varios los autores que refieren que los pacientes con mayor afectación orgánica tienen peor pronóstico ^(43, 44, 48).

**II. HIPÓTESIS DE TRABAJO DEL ESTUDIO FOTOFÉRESIS
EXTRACORPÓREA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS**

II. HIPÓTESIS DE TRABAJO DEL ESTUDIO FOTOFÉRESIS EXTRACORPÓREA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos es la única opción terapéutica curativa para algunos pacientes con hemopatías malignas, fallos medulares primarios o adquiridos, inmunodeficiencias primarias o errores congénitos del metabolismo. Este procedimiento terapéutico presenta complicaciones tanto en el periodo inmediato como a largo plazo, siendo una de las más importantes la denominada enfermedad injerto contra huésped (EICH). Inicialmente la EICH se trata con corticoides, aunque hay un 30-40% de los casos que no responden a éste tratamiento, empeorando notablemente su pronóstico, llegando incluso a fallecer por infecciones y/o fallo multiorgánico asociado a la EICH. Por tanto, el desarrollo de nuevas terapias tanto para la profilaxis como para el tratamiento de la EICH es uno de los objetivos principales de la medicina del trasplante hematopoyético. Por la similitud de la EICH con una enfermedad autoinmune, se empezó a utilizar en adultos desde hace una década la fototerapia extracorpórea (FEC).

La fotoféresis o fototerapia extracorpórea (FEC), es un tratamiento que ha demostrado ser útil en pacientes con EICH. El mecanismo biológico de acción sigue siendo en la actualidad tema de estudio. El efecto directo sobre los linfocitos T circulantes no explica todo el beneficio terapéutico, ya que sólo una pequeña proporción de éstos son tratados en cada ciclo. Este hecho nos hace pensar que deben existir otros efectos en las células responsables de la EICH que no son reclutadas en el proceso de la aféresis, como las células “natural killer”, las células presentadoras de antígeno, principalmente las células dendríticas y las subpoblaciones de linfocitos T, principalmente los linfocitos T reguladores.

La experiencia del tratamiento con FEC en pacientes pediátricos es menor, siendo una de las principales limitaciones las dificultades técnicas del procedimiento. Los problemas relacionados con el acceso vascular y/o el bajo peso de los pacientes son algunos de ellos. Por este motivo hemos realizado un estudio del tratamiento de fotoféresis extracorpórea en la población pediátrica de nuestro centro.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la FEC como tratamiento de la EICH es segura y eficaz en los pacientes pediátricos y se asocia a una mejoría de la tolerancia inmune mediada principalmente por el aumento de linfocitos reguladores.

III. OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

Objetivo primario:

- Analizar el impacto de la fotoféresis extracorpórea en el pronóstico de la enfermedad injerto contra huésped aguda y/o crónica en pacientes pediátricos sometidos a trasplante hematopoyético.

Objetivos secundarios:

- Evaluar los efectos adversos relacionados con la colecta.
- Evaluar las variables relacionadas con la colecta.
- Evaluar la respuesta clínica en la enfermedad injerto contra huésped del paciente pediátrico.
- Analizar la reconstitución inmune del paciente postaféresis: linfocitos T y subpoblaciones, células dendríticas y natural killer.

IV. PACIENTES Y MÉTODOS

IV. PACIENTES Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión retrospectiva de todos los procedimientos de fotoaféresis extracorpórea (FEC) realizados en el Hospital Infantil Niño Jesús desde el inicio de utilización de este procedimiento en el año 2003 hasta diciembre de 2012. Desde esa fecha hasta el 31 de diciembre de 2012 se han realizado 775 procedimientos. Todas las FEC se han realizado “off-line”, con el separador celular de flujo continuo COBE Spectra (TerumoBCT, Denver, CO, versión 6.1), con control manual del procedimiento o mediante autoPBSC, y desde abril de 2012 también con el separador celular de flujo continuo OPTIA (Spectra OPTIA, Terumo BCT, Denver, CO, versión 7.2). La velocidad de recolección se ajustó a 0,9 ml/mn, manteniendo el hematocrito del sistema de colecta entorno al 2%. Posteriormente en campana estéril, al producto recogido se le añaden 3 ml de 8-MOP (UVADEX®, Jonshon & Jonshon, Exton, PA) y suero salino fisiológico hasta alcanzar un volumen de 300 ml, para alcanzar una concentración del fármaco de 200 ng/ml. El producto final es transferido a una bolsa permeable a la radiación ultravioleta (MacoPharma, Tourcoing, France), para exponerla a la radiación ultravioleta A, a dosis de 2 J/cm², en el irradiador (inicialmente UVA-MATIC® y luego MACOGENIC® irradiador, Vilbert Lourmat, France). Se han estudiado las variables demográficas, las características del procedimiento de aféresis y del producto recogido, manipulado e infundido.

1.- Estudio de la seguridad: Evaluación de los efectos adversos relacionados con la colecta.

1.1. Características demográficas.

Se han evaluado 668 procedimientos de fotoféresis extracorpórea (FEC) a 52 pacientes. Los diagnósticos se resumen más detalladamente en la siguiente tabla.

Tabla 13: Diagnósticos de los pacientes sometidos a tratamiento con FEC

Diagnóstico	Procedimientos	Porcentaje (%)
AHAI	6	0,9
Anemia aplásica	14	2,1
Anemia de Fanconi	3	0,4
Anemia hemolítica por déficit de PK	5	0,7
Carcinoma suprarrenal	10	1,5
Drepanocitosis	37	5,5
Enfermedad de Hodgkin	17	2,5
Sarcoma de Ewing	24	3,6
Inmunodeficiencia	18	2,7
LMA	75	11,2
LNH	36	5,4
LLA	388	58

Osteosarcoma	1	0,1
Síndrome de Evans	11	1,6
Síndrome HiperIgM	11	1,6
Síndrome mieloproliferativo	7	1,0
Tumor desmoplásico	3	0,4
Síndrome Wiskott-Aldrich	2	0,3
Total	668	100

AHA1: anemia hemolítica autoinmune, PK: piruvato quinasa, LMA: leucemia mieloblástica aguda, LNH: linfoma no Hodgkin, LLA: leucemia linfoblástica aguda

1.2. Efectos adversos durante la colecta

La seguridad viene determinada por los efectos adversos ocurridos durante el procedimiento, que serán comentados más adelante. Para el estudio de las variables relacionadas con la aparición de los efectos adversos se han analizado los siguientes factores:

1.2.1 Dependientes del sujeto: edad, sexo, diagnóstico, grupo de diagnóstico (leucemias/linfomas, enfermedades hematológicas no malignas, tumores sólidos), situación de la enfermedad de base en el momento de realización de la aféresis, peso (Kg), volemia (L), soporte transfusional previo o posterior al procedimiento y acceso vascular.

En niños de menos de 20 Kg, para evitar la hipovolemia durante la colecta, calculamos la volemia del paciente multiplicando el peso (Kg) por 80; además es necesario purgar el separador celular con un concentrado de hematíes previamente irradiado compatible con el receptor. Las pruebas de compatibilidad se realizaron en el Servicio de Transfusión de nuestro centro.

1.2.2 Dependientes del procedimiento: volumen procesado (ml), volemias procesadas (L), volumen por kilo del sujeto procesado, flujo medio, anticoagulación empleada y tiempo (mn).

Los efectos adversos durante el procedimiento se han recogido retrospectivamente hasta junio de 2010, posteriormente de forma prospectiva. Se ha seguido el cuestionario del Comité de Hemaféresis de la Sociedad Americana de Bancos de Sangre. Este cuestionario recoge los efectos secundarios agrupados en siete categorías:

- 1 Efectos adversos secundarios al efecto del citrato: náuseas y/o vómitos, tetania y/o fasciculaciones y arritmia cardíaca.
- 2 Efectos adversos relacionados con la zona de punción: dolor, daño del nervio, hematoma palpable.
- 3 Efectos adversos relacionados con reacciones hipovolémicas o vasovagales: palidez y/o diaforesis, náuseas y/o vómitos, síncope o ataques, bradicardia con pulso menor a 50 lpm, taquicardia con pulso mayor a 120 lpm, hipotensión grave con tensión arterial sistólica (TAS) menor de 80 mmHg, adaptándola a la edad del niño.
- 4 Efectos adversos relacionados con problemas del acceso venoso: infección, trombosis, neumotórax, hemotórax, otras hemorragias, punción en arteria. Si el catéter no funciona y precisa cambio de posición del

paciente y/o lavado del catéter con suero salino fisiológico y/o protocolo de desobstrucción con uroquinasa.

- 5 Otros efectos adversos ocurridos durante el procedimiento de aféresis: escalofríos, arritmia relacionada con el citrato, complicaciones inmediatas con la infusión de un componente sanguíneo como urticaria, fiebre o reacción hemolítica, anafilaxia.
- 6 Efectos adversos ocurridos durante la aféresis o en las cuatro horas posteriores: distrés respiratorio, colapso circulatorio, parada cardíaca, muerte.
- 7 Incidentes por errores o mal funcionamiento: hemólisis, embolia gaseosa, coagulación o rotura del circuito extracorpóreo, incapacidad para retornar la sangre del circuito extracorpóreo.
- 8 Cualquier otro efecto adverso y/o incidencia observada que no se haya contemplado en las respuestas anteriores.

1.2.3 Dependientes del separador celular empleado: ya detallados en el apartado anterior.

2.- Estudio de la eficiencia: Evaluación de las variables relacionadas con la colecta.

2.1. Características demográficas

Las características demográficas de la población son las mismas que en el apartado 1.1.

2.2. Variables relacionadas con la colecta.

La eficiencia de las colectas se define como el porcentaje de linfocitos recolectados del total que atraviesan el separador celular. Para el estudio de las variables relacionadas con la eficiencia del procedimiento se han analizado los siguientes factores:

2.2.1. Estudios preaféresis al paciente: leucocitos ($\times 10^9/\mu\text{L}$), linfocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), plaquetas ($\times 10^9/\mu\text{L}$) y hematocrito (%).

2.2.2 Dependientes del procedimiento: volumen de sangre procesado (ml), volumen procesado (ml) por kilo del sujeto y tiempo (mn).

2.2.3 Estudios del producto de aféresis: leucocitos ($\times 10^9/\mu\text{L}$), linfocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), volumen recogido (ml), leucocitos ($\times 10^9/\mu\text{L}$) por kilo de peso del paciente, linfocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) por kilo de peso del paciente y volumen procesado (ml) por kilo de peso del paciente.

El cálculo se realizó de este modo:

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{Linfocitos recolectados } (\times 10^3/\mu\text{L}) \times 100}{\text{Linfocitos preaféresis } (\times 10^3/\mu\text{L}) \times \text{Volumen procesado (ml)}}$$

3.- Estudio de la eficacia: Evaluación de la respuesta clínica del paciente.

3.1. Características demográficas

3.1.1 Pacientes

Desde que se empezó a realizar tratamiento con FEC en nuestro centro, se han realizado 775 procedimientos de FEC a 65 pacientes. Esta diferencia en el número de procedimientos y pacientes respecto a los apartados anteriores, es debido a la falta de recogida de datos completa de las colectas. Iniciaron tratamiento con FEC por EICHa 46 pacientes (70,7%) y por EICHc 19 (29,3%). Los diagnósticos por grupos se resumen más detalladamente en la siguiente tabla.

Tabla 14: Diagnósticos de los pacientes sometidos a tratamiento con FEC.

Diagnóstico	Pacientes	%
Leucemias/Linfomas	46	71
Enfermedades hematológicas no malignas	15	23
Tumores sólidos	4	6
Total	65	100

3.1.2 Criterios de inclusión y de exclusión

A continuación se detallan los criterios de inclusión y de exclusión para FEC utilizados en nuestro centro en el paciente pediátrico con EICHa o EICHc secundario a un trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Tabla 15: Criterios de inclusión y de exclusión utilizados en nuestro centro en el paciente pediátrico con EICHa o EICHc secundario a un trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> • EICHa grados II-IV • EICHc moderada-grave. • EICH refractarios al tratamiento con esteroides a dosis de 2 mg/Kg/día, habiendo recibido tratamiento entre 3 y 7 días en caso de EICHa y 2 meses en EICHc • Pacientes con dependencia al tratamiento con esteroides. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes con una cifra de plaquetas < 10.000/μL. • Pacientes con inestabilidad hemodinámica. • Pacientes y/ o familiares que no se comprometan a completar el tratamiento • Pacientes con escala de Lansky/Karnofsky < 40% (Anexo 2)

EICH: enfermedad injerto contra huésped, EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica

3.1.3. Esquema de tratamiento con FEC

El esquema de tratamiento con FEC lo dividimos en dos tipos de pacientes (Anexo 1):

- Pacientes con EICHa: se les realizarán 2 procedimientos de aféresis a la semana durante 4 semanas, empezando la primera semana con 3 procedimientos. Según la edad del paciente, los procedimientos se realizarán 2 días consecutivos, o a días alternos (en los pacientes de menos de 20 Kg). Al mes se evaluará al paciente, como se detalla en el siguiente apartado. En caso de mejoría, se realizarán 2 procedimientos cada dos semanas. El tratamiento finaliza a los 3 meses o hasta alcanzar máxima respuesta.

- Pacientes con EICHc: se les realizarán 2 procedimientos de aféresis a la semana durante 4 semanas. Según la edad del paciente, los procedimientos se realizarán 2 días consecutivos o a días alternos (en los pacientes de menos de 20 Kg). Al mes se evaluará al paciente, como se detalla en el siguiente apartado. En caso de mejoría, se realizarán 2 procedimientos cada 2 semanas. El tratamiento finaliza a los 6 meses o hasta alcanzar máxima respuesta.

3.2 Evaluación de la respuesta clínica del paciente

La eficacia se define como la respuesta clínica del paciente sometido a tratamiento con FEC. Los criterios de respuesta utilizados en nuestro centro fueron definidos por Greinix y col. en 1998, siendo los siguientes ⁽⁴¹⁾:

1. Remisión completa (RC): cuando hay una resolución completa de las manifestaciones orgánicas.
2. Remisión parcial (RP): cuando hay >50% de respuesta en los órganos involucrados.
3. No respuesta (NR): cuando no se observan cambios o se produce progresión de la EICH.

Para el estudio de la eficacia del procedimiento se han analizado los siguientes factores:

3.2.1 Dependientes del sujeto: edad, sexo, peso (Kg), escala de Lansky/Karnofsky (Anexo 2), diagnóstico, grupo de diagnóstico (leucemias/linfomas, enfermedades hematológicas no malignas, tumores sólidos), situación de la enfermedad de base en el momento de realización de la aféresis, indicación de FEC (EICHa/EICHc)

3.2.2 Dependientes del donante: fuente de células progenitoras utilizadas: sangre periférica (SP), médula ósea (MO), sangre de cordón umbilical (SCU), manipulación, identidad HLA, tipo de donante.

3.2.3 Dependientes del procedimiento: procedimientos por paciente, tiempo transcurrido entre el trasplante y el inicio de FEC, seguimiento del paciente en tratamiento.

3.2.4 Dependientes del producto infundido: linfocitos infundidos ($\times 10^3/\mu\text{L}$).

Se realizó hemograma de control al producto de aféresis.

3.2.5 Dependientes del separador celular empleado: ya comentado en apartados anteriores

El cálculo se realizó de este modo:

$$\text{Eficacia} = \frac{\text{Linfocitos recolectados } (\times 10^3/\mu\text{L}) \times 100}{\text{Linfocitos preaféresis } (\times 10^3/\mu\text{L}) \times \text{Volumen sanguíneo (ml)}}$$

3.2.6. Dependientes de la dosis de esteroides (mg/Kg) antes y después del tratamiento con FEC: se analizará la dosis de tratamiento con esteroides antes de comenzar y al finalizar el tratamiento con FEC, en los pacientes respondedores y no respondedores.

Las evaluaciones del paciente con EICHa o EICHc se realizarán antes de comenzar del tratamiento, y al mes o a los tres meses (según se trate de agudo o crónico) para ver la respuesta. En caso de no encontrar mejoría los pacientes abandonan el tratamiento con FEC. Las evaluaciones posteriores dependerán del esquema terapéutico utilizado en cada caso en concreto. Los parámetros utilizados para la evaluación se resumen en el anexo 3. Tras la evaluación clínica del paciente, debemos de encuadrar la respuesta del paciente, de acuerdo a los criterios de respuesta utilizados en nuestro centro, que se detallan más adelante. En caso de encontrarse en RC o RP, continuarán con tratamiento FEC hasta finalizar 3 meses en caso de EICHa, 6 meses en EICHc o hasta alcanzar máxima respuesta. Si el paciente se encuentra en NR, abandonará el tratamiento.

4. Protocolo de fotoféresis extracorpórea del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús

Los procedimientos de FEC se realizaron en nuestro centro mediante el método "off-line". Este método se divide en dos etapas.

1ª Etapa: Recolección de células mononucleares (CMN) del paciente en sangre periférica.

El procedimiento de aféresis se realiza con el separador celular de flujo continuo Cobe Spectra (TerumoBCT, Denver, CO, versión 6.1), modo manual o automático con AutoPBSC, y con el separador celular Optia (TerumoBCT, Denver, CO, versión 7.2). Para asegurarnos un flujo sanguíneo adecuado, necesitamos un buen acceso vascular, como ya hemos detallado en apartados anteriores. Según el tipo de paciente, se canalizarán el día de la aféresis dos vías venosas periféricas en flexuras o se programará la colocación de un catéter venoso central (CVC), mediante sedación, de un diámetro entre 5-11 Fr (Arroz-Howes, Reading, PA; Plastimed, Prodimed, Saint Leu Forey Cedex, France; and pr Multicath2, Vygon, France). La conexión del separador celular a las líneas de acceso y retorno del paciente, se realizan preferentemente con el acceso a la luz proximal y el retorno a la distal, si el flujo sanguíneo es

suficiente. En caso contrario conectaremos el acceso a la luz que de más flujo. El separador celular se programa para la recolección de CMN, procesando un volumen de sangre equivalente a 1-2 veces el volumen sanguíneo (1-2 volemias) del paciente. En los pacientes de más de 20 Kg la volemia la calcula el separador celular al introducir variables como el sexo, el peso (Kg) y la talla (cm) del paciente. Los pacientes de menos de 20 Kg ya los hemos comentado en apartados anteriores. El anticoagulante de elección del sistema es el ACD-A, a un ratio de 14/1 (esto significa que por cada 13 ml de sangre periférica se procesa 1 ml de ACD-A). Para evitar los efectos secundarios al anticoagulante, durante el procedimiento se infunde de manera profiláctica calcio, a una proporción molar de calcio/citrato de 1/10 (0,5 mg de ión calcio por ml de ACD-A) y magnesio, a una proporción molar magnesio/citrato de 1/10 (0,15 mg de ión magnesio por ml de ACD-A). En los casos de tetania grave se administrará calcio y magnesio intravenoso. Para evitar los efectos adversos relacionados con el anticoagulante, en los niños menores de 20 Kg, el flujo sanguíneo no debe superar 1 ml/Kg/mn. En el resto de pacientes, este flujo podrá incrementarse hasta los límites que permita la ratio de anticoagulante. Al inicio del proceso, los flujos deben ir más lentos hasta que la sangre retorna al paciente. Las analíticas de control (hemograma, bioquímica y coagulación) se extraerán al paciente antes de iniciar el procedimiento de aféresis y al menos 60 mn después de finalizar. Además a todos los pacientes en tratamiento con FEC, se les realizarán serologías completas cada 6 meses.

2ª Etapa: Procesamiento del producto, irradiación y reinfusión al paciente.

El producto de aféresis recogido, debe ser manipulado en condiciones estériles, en la campana de flujo laminar. Antes de empezar la manipulación, se realiza un control de calidad, para recuento celular y hematocrito, extrayendo una muestra en un tubo con EDTA (anticoagulante). Del producto tratado realizaremos 2 hemocultivos (aerobio y anaerobio). A continuación se introducen 3 ml de 8-MOP solución acuosa que contiene 20 µg/ml del principio activo metoxipsoraleno (UVADEX®, Jonshon and Jonshon, Exton, PA) y se completa con suero salino fisiológico hasta conseguir un volumen final de 300 ml. Al diluir el producto, se obtiene una concentración final del fármaco de 200 ng/ml. Tras dejar incubar la aféresis con el reactivo durante 5 mn, se pasa el producto final, mediante una conexión estéril, a una bolsa permeable a la luz UVA (MacoPharma, Tourcoing, Francia). En los pacientes de menos de 20 Kg, es necesario reducir el volumen del producto a la mitad para evitar la sobrecarga de volumen en el paciente. Para ello, el producto de aféresis se centrifuga, en una centrífuga refrigerada a 1000 rpm, durante 10 mn, a 22°C (sin freno). Tras la centrifugación se desplasmatiza hasta la mitad, para posteriormente tratarlo, obteniendo un volumen final de 150 ml. El producto final se expone a la irradiación UVA mediante un irradiador externo (Macogenic® irradiator, Vilber Lourmat, Marne-la-Vallee, Francia), a dosis de 2 J/cm², aproximadamente durante 15-20 mn. Una vez irradiado, el producto final se reinfunde al paciente mediante un sistema de transfusión de sangre aproximadamente en 1-2 horas (según el peso del paciente). Se monitorizarán y recogerán los efectos adversos durante todo el procedimiento.

5. Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc). El análisis descriptivo de las poblaciones se realizó mediante la mediana y el rango de las variables continuas y las frecuencias absolutas y porcentajes en las variables cualitativas. La comparación entre dos grupos de datos cuantitativos se realizó mediante el test de la t-Student, el test U de Mann-Whitney o el test de Kruskal-Wallis según la distribución de los datos siguiera o no un patrón de normalidad. La comparación entre datos cualitativos se realizó mediante el test exacto de Fisher. Las correlaciones se determinaron mediante el análisis de regresión lineal. Los resultados se consideraron significativos si el valor de p era $\leq 0,05$.

6. Consentimiento informados.

Las familias o responsables legales de los pacientes fueron informados, obteniéndose un consentimiento informado de los mismos.

V. RESULTADOS

V. RESULTADOS

Todo el estudio se ha realizado en el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, reclutando a 65 pacientes con enfermedad injerto contra huésped postrasplante hematopoyético, sometidos a tratamiento con fotoféresis extracorpórea desde el 1 de enero de 2003 hasta el 31 de diciembre de 2012. El análisis de nuestros resultados lo hemos dividido en tres apartados:

- 1.- Estudio de la seguridad: Evaluación de los efectos adversos relacionados con la colecta.
- 2.- Estudio de la eficiencia: Evaluación de las variables relacionadas con la colecta.
- 3.- Estudio de la eficacia: Evaluación de la repuesta clínica del paciente.

1.- Estudio de la seguridad: Evaluación de los efectos adversos relacionados con la colecta

1.1.- Características demográficas

Se han estudiado los efectos adversos relacionados con la colecta de 668 procedimientos, realizados a 52 pacientes. La mediana de procedimientos por paciente fue de 7 (2-84). La mediana de edad fue de 11 años (6 meses-22 años); se incluyó un paciente de 22 años seguido en este centro desde el diagnóstico de su enfermedad en la infancia. La mediana de peso fue de 38 Kg (6-93). Los diagnósticos de los pacientes se detallan en la tabla 13.

El acceso vascular utilizado para la realización de la colecta fue en 591 procedimientos (88%) un catéter venoso central, en 75 (11%) casos con vías periféricas canalizadas en las flexuras y mediante una vía periférica en flexura y un porth-A cath en tan solo 2 casos (1%). Las diferentes localizaciones de los catéteres venosos centrales canalizados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 16: Localización de los catéteres venosos centrales canalizados

Localización	n	%
Vena femoral derecha	301	51
Vena femoral izquierda	184	31
Vena subclavia derecha	22	4
Vena subclavia izquierda	69	11
Vena yugular derecha	12	2
Vena yugular izquierda	3	1
Total	591	100

El soporte transfusional previo al procedimiento se realizó en 77 casos con concentrados de hematíes y en 59 casos con plaquetas. En nuestro centro antes de iniciar el procedimiento, el paciente debe tener una cifra de hemoglobina (Hb) >9 g/dL y de plaquetas >20.000/μL.

1.2.- Efectos adversos durante la colecta

Se registró algún efecto adverso en 317 (47,5%) procedimientos, no apareciendo ninguno en 351 (52,5%) ocasiones. Si consideramos sólo las complicaciones graves: hipotensión grave (en 10 procedimientos), bradicardia (en 2 procedimientos) y síncope (en 1 procedimiento), este porcentaje se reduce hasta el 1,9%.

No se registró ningún efecto adverso de los considerados muy graves, englobados en el grupo de errores, otras observaciones o, efectos adversos durante la aféresis o en las 4 horas posteriores.

En la siguiente tabla se indica los principales efectos adversos encontrados:

Tabla 17: Efectos adversos durante la colecta

Efecto adverso	n	%
Totales	317	47,5
Problemas acceso venoso	185	27,7
Toxicidad citrato	83	12,4
Infección catéter	18	2,7
Cardiovasculares	18	2,7
Otros	13	1,9

Los efectos adversos más frecuentes fueron los problemas con el acceso venoso y la toxicidad por citrato. Los problemas con el acceso venoso fueron mecánicos, siendo: posicionales en 115 procedimientos, precisando lavado del catéter en 64 ocasiones y en 27 la utilización de uroquinasa. Los casos considerados como graves fueron tan solo 13, siendo en 10 ocasiones por hipotensión grave (considerando hipotensión grave cuando la tensión arterial sistólica es menor al P3 para su edad; anexos 4 y 5), en 2 casos por bradicardia (cuando el pulso es inferior a 50 lpm) y en un caso por síncope.

En la tabla siguiente se detallan los casos encontrados en cada categoría:

Tabla 18: Tipos de efectos adversos durante la colecta

	Tipo de efecto adverso	n
Problemas acceso venoso	Mecánicos	185
Toxicidad citrato	Parestesias/Náuseas	83
Infección catéter	Pericatéter	8
	Infección del catéter	10
Cardiovasculares	Hipotensión grave (TAS < P3 para su edad)	10
	Bradicardia (<50 lpm)	2
	Síncope	1
	Náuseas	7
Otros	Dolor en el punto punción	2
	Hematoma en zona de acceso vascular	5

	Sangrado gastrointestinal bajo	1
	Fiebre e hipotensión	1
	Desaturación	1
	Incapacidad de retorno de la sangre	3

TAS: tensión arterial sistólica, lpm: latidos por minuto

Los efectos secundarios hematológicos se refieren a la pérdida de hemáties y plaquetas producida en el separador celular. Esta pérdida la calculamos haciendo la diferencia entre el hematocrito/plaquetas preaféresis y el hematocrito/plaquetas postaféresis. Los datos se encuentran en la siguiente tabla:

Tabla 19: Efectos secundarios hematológicos

Pérdida	Mediana (rango)
Hematocrito (puntos)	3,6 (12,5-13,8)
Plaquetas (%)	33,4 (12-68)

Con estas cifras, podemos observar como la pérdida de plaquetas tras la realización del procedimiento de aféresis (un 33,4% respecto a la inicial) es la complicación hematológica más importante. En ningún caso fue necesario el soporte transfusional por hemorragia activa por el descenso de la cifra de plaquetas tras la finalización del procedimiento.

1.3.- Factores relacionados con la aparición de los efectos adversos

En este punto se estudian los factores relacionados con la aparición de los distintos efectos adversos. Para ello hemos dividido cada uno de los efectos adversos en dos grupos según tuvieran o no efectos adversos, y se compararon los grupos respecto a cada variable.

1.3.1.- Problemas con el acceso venoso.

Se recogen en la siguiente tabla las variables relacionadas con los problemas en el acceso venoso:

Tabla 20: Variables relacionadas con los problemas en el acceso venoso

Variable	SI	NO	p
	Mediana (rango)	Mediana (rango)	
Peso (Kg)	37,3 (6,4-68,6)	38,3 (5,5-93,4)	NS (0,9)
Volumen procesado (ml)/Kg	126 (31-234)	139 (51-255)	<0,001
Flujo (ml/mn)	30 (4-170)	35 (4-80)	0,01
Tiempo (mn)	146 (40-239)	149 (50-267)	NS (0,6)

Kg: kilos, ml: mililitros, ml/mn: mililitros/minuto, mn: minutos, NS: no significativa

Se observa como en aquellos procedimientos con problemas en el acceso vascular, el flujo de salida es menor, acortándose el tiempo del procedimiento por dificultades técnicas con el acceso. Es estadísticamente

significativo el volumen procesado por kilo de peso de paciente, siendo en los casos con problemas de acceso venoso menor que en aquellos procedimientos que no presentan problemas relacionados con el mismo.

1.3.2.- Toxicidad por citrato.

Las variables relacionadas con la toxicidad por citrato se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 21: Variables relacionadas con la toxicidad por citrato

	SI	NO	p
Variable	Mediana (rango)	Mediana (rango)	
Peso (Kg)	44,7 (5,6-68,6)	36,5 (5,5-93,4)	<0,001
Volumen procesado (ml)/Kg	126 (43-179)	138 (31-255)	<0,001
Flujo (ml/mn)	39 (8-80)	32,5 (4-170)	0,008
Tiempo (mn)	143 (40-225)	148 (61-267)	NS (0,7)

Kg: kilos, ml: mililitros, ml/mn: mililitros/minuto, mn: minutos, NS: no significativa

La aparición de los efectos adversos debido a la toxicidad por citrato, estadísticamente significativas son el peso y el volumen procesado. Esto podríamos explicarlo ya que los pacientes de mayor peso, tiene más edad y mayor volemia, por lo que son capaces de expresar la sintomatología durante el procedimiento de aféresis (parestesias peribucuales leves o parestesias en manos y/o pies leves), administrando, si fuera necesario medicación adicional para poder tolerar mejor el procedimiento. En los niños de menor peso, y por lo tanto menor edad y menor volemia, nos tenemos que guiar por la aparición de sintomatología secundaria a la hipocalcemia como el dolor abdominal, o las nauseas/vómitos, siendo en muchos casos infradiagnosticada. En relación al volumen procesado, éste es menor en aquellos casos en los que la sintomatología por citrato aparece, ya que si ésta no cede se finaliza antes el procedimiento, procesándose menos volumen.

1.3.3.- Infección del catéter.

Los efectos adversos relacionados con la infección del catéter se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 22: Variables estadísticamente significativas relacionados con la infección del catéter

Infección	n (18)
Pericatóter	8
<i>Staphilococcus epidermidis</i>	7
<i>Proteus mirabillis</i>	1
Catóter	10
<i>Staphilococcus epidermidis</i>	9
<i>Pseudomona pickettii</i>	1

En ninguno de los casos la infección del catéter tuvo trascendencia clínica, encontrándose los pacientes asintomáticos. Ante la aparición de estos hallazgos se informa a la Unidad clínica para que valore la administración de tratamiento antibiótico y/o la retirada del catéter del paciente en caso de ser necesario.

1.3.4.- Cardiovasculares.

Las variables relacionadas con los efectos adversos cardiovasculares se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 23: Variables relacionadas con los efectos adversos cardiovasculares

	SI	NO	p
Variable	Mediana (rango)	Mediana (rango)	
Peso (Kg)	39,2 (5,6-61)	38 (5,5-93,4)	NS (0,34)
Flujo (ml/mn)	33 (5-44)	33 (4-170)	NS (0,19)
Hematocrito (%)	31 (24-39)	32 (11-51)	NS (0,19)
Volumen procesado (ml)/Kg	121 (62-193)	137 (31-255)	0,007
Tiempo (mn)	145 (50-210)	148 (40-267)	NS (0,38)

Kg: kilos, ml: mililitros, ml/mn: mililitros/minuto, mn: minutos, NS: no significativa

La variable con mayor tendencia a la significación es el volumen procesado por kilo de peso del paciente. Esto se podría explicar ya que en aquellos casos en los que aparece la sintomatología cardiovascular, que no cede con el tratamiento adecuado, se finaliza el procedimiento, recogiendo por lo tanto un volumen menor.

4.1.3.5.- Otros

El resto de los efectos adversos registrados, ya expuesto en la tabla del punto 1.2, al ser aislados no se han correlacionado con ninguna variable.

1.4.- **Relación entre la pérdida de hematocrito y plaquetas según el separador celular utilizado.**

Hemos estudiado la pérdida de hematocrito y plaquetas, analizando como variables el tipo de separador celular utilizado en nuestro centro. Se han utilizado tres separadores celulares: Cobe Spectra modo manual (CM), Cobe Spectra modo automático (CA) y Optia (O).

Las diferencias en la pérdida del hematocrito y plaquetas dependiendo del separador celular utilizado se exponen en la siguiente tabla:

Tabla 24: Diferencias en la pérdida del hematocrito y plaquetas dependiendo del separador celular utilizado.

Variables	CM	CA	O	p
Pérdida Hematocrito (%)	3,8 (12,5-13,8)	3,5 (1,3-7,8)	2,85 (5-12,4)	NS (0,11)
Pérdida Plaquetas (%)	35 (12-68)	31 (4,7-56)	26 (21-52)	<0,009

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo automático, O: Optia, NS: no significativa

De acuerdo a estos datos, se observa como la pérdida de hematocrito no es estadísticamente significativa independientemente del separador celular utilizado. En cambio la pérdida de plaquetas si que es estadísticamente significativa, siendo menor en aquellos pacientes a los que se había realizado la colecta con el separador celular Optia (Figura 8).

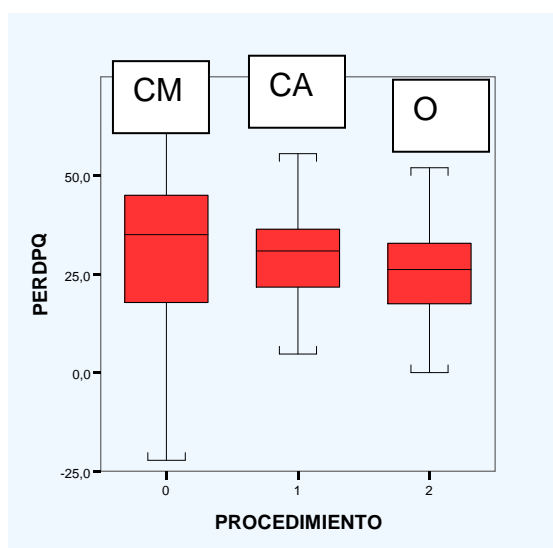


Figura 8: La pérdida de plaquetas es menor con el separador celular Optia comparada con los otros dos separadores celulares.

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo automático, O: Optia,

$p < 0,009$

1.4.1.- Pérdida de plaquetas

Al comparar la pérdida de plaquetas entre los separadores celulares CM y CA, no se observan diferencias estadísticamente significativas, como se demuestra en la tabla 24.

En cambio si comparamos los separadores celulares CM, frente al separador celular Optia, sí que encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,009$) en la pérdida de plaquetas siendo ésta menor al utilizar el separador celular Optia (tabla 24).

Las variables relacionadas con la pérdida de plaquetas en relación con el separador celular utilizado estadísticamente significativas se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 25: Variables relacionadas con la pérdida de plaquetas según el separador celular.

Variables	CM	CA	O	p
Volemias procesadas (L)	2,2 (0,5-3)	2,2 (0,6-2,2)	1,8 (1,1-2,7)	<0,001
Volumen procesado (ml)/ Kg	137 (31-255)	138 (49-181)	119 (79-157)	<0,001
Pérdida Plaquetas (%)	35 (512-68)	31 (4,7-56)	26 (21-52)	<0,009

L: litros, ml: mililitros, Kg: kilo

La pérdida de plaquetas se relaciona con el volumen procesado y la volemia del paciente, es decir, que a mayor cantidad de sangre procesada (volumen/Kg o volemias procesadas), la pérdida de plaquetas será más elevada, independientemente del separador celular que utilicemos (Figura 9).

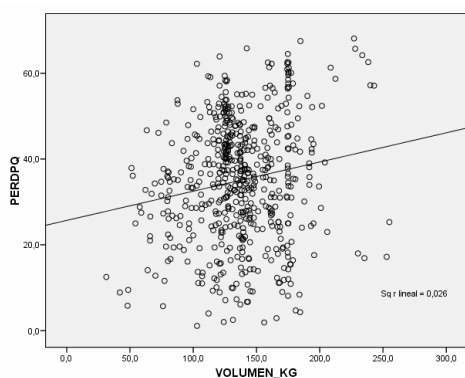


Figura 9: Relación entre el volumen procesado por kilo de peso del paciente y la pérdida de plaquetas que se produce durante el procedimiento de aféresis.

1.4.2.- Pérdida de hematocrito.

No existen diferencias entre los separadores celulares utilizados en nuestro centro para explicar la pérdida de hematocrito que sufren los pacientes sometidos a un procedimiento de aféresis (Figura 10). Los datos se recogen en la tabla 24.

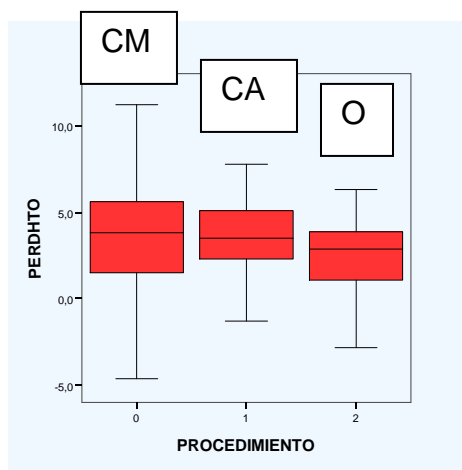


Figura 10: La pérdida de hematocrito es independiente del separador celular utilizado.

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo automático, O: Optia, NS: no significativo

NS (p= 0,11)

Tampoco existen diferencias estadísticamente significativas si comparamos los separadores celulares CM y CA, como se indica en la siguiente figura. Los datos se recogen en la tabla 24.

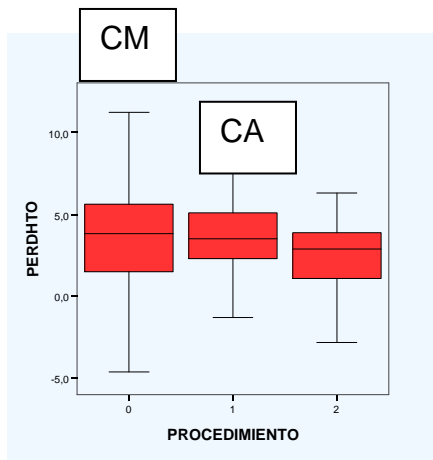


Figura 11: Comparación de la pérdida de hematocrito entre Cobe Spectra manual y Cobe Spectra automática.

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo automático, O: Optia, NS: no significativo

NS ($p < 0,86$)

Cuando comparamos la pérdida de hematocrito entre los separadores celulares CM y O, observamos como la pérdida de hematocrito es menor cuando utilizamos el separador celular Optia. La media de pérdida de hematocrito entre ambos separadores se expone en la tabla 24, siendo con CM de 3,8% y de 2,85% con O, siendo 1 punto mas baja cuando utilizamos éste último separador celular, aunque no existen diferencias estadísticamente significativas (Figura 12).

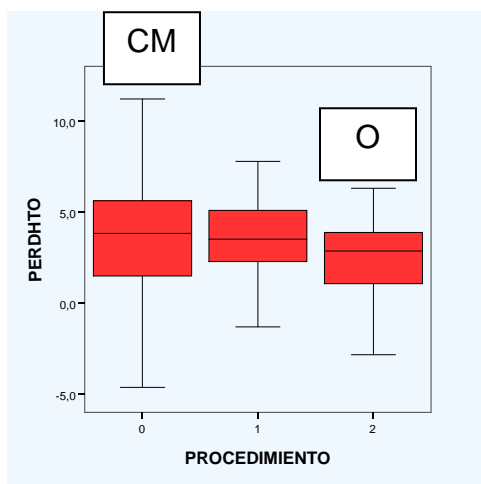


Figura 12: Comparación de la pérdida de hematocrito entre Cobe Spectra manual y Optia.

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo automático, O: Optia, NS: no significativo.

NS ($p < 0,05$)

2.- Estudio de la eficiencia: Evaluación de las variables relacionadas con la colecta

Como ya hemos definido previamente, la eficiencia de las colectas es el porcentaje de linfocitos recolectados del total que atraviesan el separador celular. El cálculo se realizó de este modo:

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{Linfocitos recolectados (x10}^3/\mu\text{L)} \times 100}{\text{Linfocitos preaféresis (x10}^3/\mu\text{L)} \times \text{Volumen procesado (ml)}}$$

Las variables estudiadas relacionadas con la colecta las dividimos en variables preaféresis y variables del producto de aféresis. Las variables preaféresis son las muestras tomadas al paciente antes de iniciar la colecta. Las variables del producto de la aféresis son aquellas muestras tomadas del producto recogido. En la siguiente tabla se exponen las variables relacionadas con la colecta preaféresis:

Tabla 26: Variables relacionadas con la colecta.

Variables	Mediana (rango)
Leucocitos sangre periférica preaféresis x 10 ³ /μl	5,23 (0,01-29,8)
Linfocitos sangre periférica preaféresis x 10 ³ /μl	0,65 (0,01-7,77)
Plaquetas sangre periférica preaféresis x 10 ³ /μl	134 (6-1400)
Hematocrito preaféresis (%)	32,7 (18,1-51,2)
Volumen sanguíneo procesado (ml)	2,2 (0,5-3)
Volumen sanguíneo procesado (ml)/Kg	137 (31-255)
Tiempo (mn)	148 (40-267)

μl: microlitro, ml: mililitro, Kg: kilogramos, mn: minutos

Las variables relacionadas con el producto de aféresis se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 27: Variables relacionadas con el producto de aféresis.

Variables	Mediana (rango)
Leucocitos sangre periférica aféresis x 10 ³ /μl	27,3 (0,28-778,8)
Linfocitos sangre periférica aféresis x 10 ³ /μl	10,2 (0,23-109,1)
Volumen de producto recogido (ml)	106 (10-214)
Leucocitos x 10 ⁶ /Kg	78 (1,4-2469,4)
Linfocitos x 10 ⁶ /Kg	28,2 (0,8-312,4)
Volumen sanguíneo procesado (ml)/Kg	137 (31-255)
Eficacia	73,7 (2,1-383,9)
Eficiencia	38,7 (1,2-350)

μl: microlitro, ml: mililitro, Kg: kilogramos

2.1.- Análisis de las variables relacionadas con la colecta.

Se han analizado todas las variables anteriormente expuestas observando como la relación entre el recuento de linfocitos en sangre periférica preaféresis es directamente proporcional al recuento de linfocitos recogidos ($p < 0,001$), es decir, si partimos de un mayor número de linfocitos en el paciente, recogemos más. Esta relación se representa en la siguiente figura:

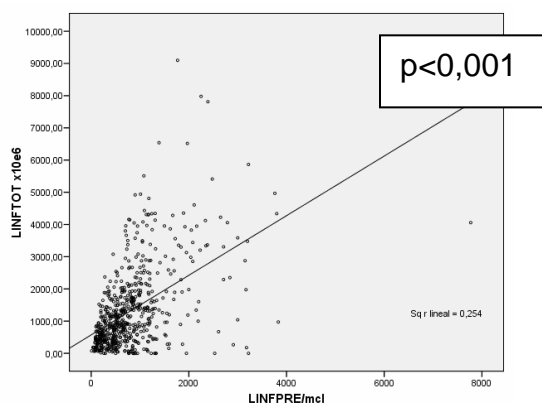


Figura 13: Relación entre el recuento de linfocitos antes del procedimiento y los linfocitos recogidos.

2.2.- Análisis de las variables relacionadas con la colecta según el separador celular utilizado.

2.2.1.- Variables relacionadas con la colecta según el separador celular utilizado

Hemos estudiado las variables anteriormente descritas, comparándolas con los diferentes separadores celulares utilizados en nuestro centro. Los resultados de las variables que resultaron ser significativas se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 28: Variables relacionadas con la colecta según el separador celular utilizado

Variables	CM	CA	O	p
Leucocitos SP preaféresis x $10^3/\mu\text{l}$	5,1 (0,3-29,3)	5,3 (1,9-14,5)	7,4 (1,7-29,8)	0,02
Linfocitos SP preaféresis x $10^3/\mu\text{l}$	0,65 (0,01-7,8)	0,74 (0,14-2,9)	0,675 (0,06-3,8)	NS
Leucocitos SP aféresis x 10^6	2758 (8,4-24288)	1837 (56-8658)	2794 (575-6016)	<0,001
Linfocitos SP aféresis x 10^6	986 (7,2-9095)	816 (44-3954)	945 (63-3929)	NS
Leucocitos x $10^6/\text{Kg}$	87 (1,5-949)	44 (1,4-167)	64 (9-166)	<0,001
Linfocitos x $10^6/\text{Kg}$	30 (0,8-312)	20 (1,1-93)	21 (0,99-92)	<0,001
Tiempo (mn)	146 (40-267)	151 (100-239)	167 (121-228)	<0,001
Volumen de sangre procesado (ml)	2,2 (0,5-3)	2,2 (0,6-2,2)	1,8 (1,1-2,7)	<0,001
Volumen procesado (ml)/Kg	137 (31-255)	138 (49-181)	119 (79-157)	<0,001

μl : microlitro, SP: sangre periférica, CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo autoPBSC, O: Optia, Kg: kilogramos, ml: mililitros, mn: minutos, NS: no significativo

Se encontró significación estadística en las variables descritas en la tabla anterior, siendo las colectas mejores cuando se realizan con CM (los leucocitos por kilo de peso del paciente y los linfocitos por kilo de peso recogidos son mayores con el separador celular CM). En relación con los leucocitos del producto de aféresis recogidos son similares entre CM y O. La relación entre el recuento de linfocitos antes del procedimiento y los linfocitos recogidos en el producto de aféresis se recogen en las siguientes figuras. Se observa como esta correlación es mejor cuando utilizamos el separador celular CM que con CA (Figuras 14 y 15). Al estudiar esas mismas variables con el separador celular Optia, no existe ninguna correlación explicable (Figura 16).

Figura 14: Relación entre el recuento de linfocitos antes del procedimiento y los linfocitos de la aféresis con el separador celular Cobe Spectra Manual.

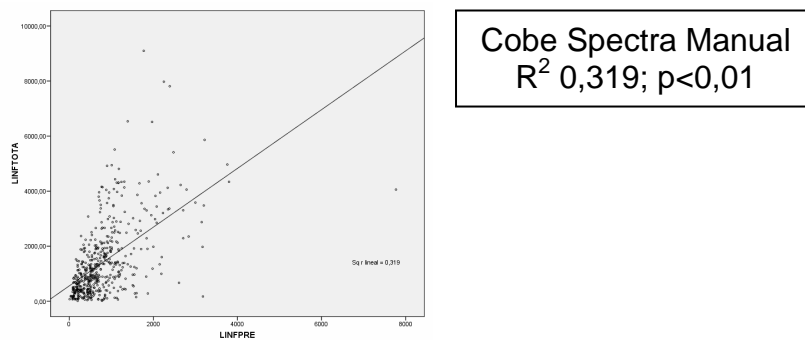


Figura 15: Relación entre el recuento de linfocitos antes del procedimiento y los linfocitos de la aféresis con el separador celular Cobe Spectra AutoPBSC.

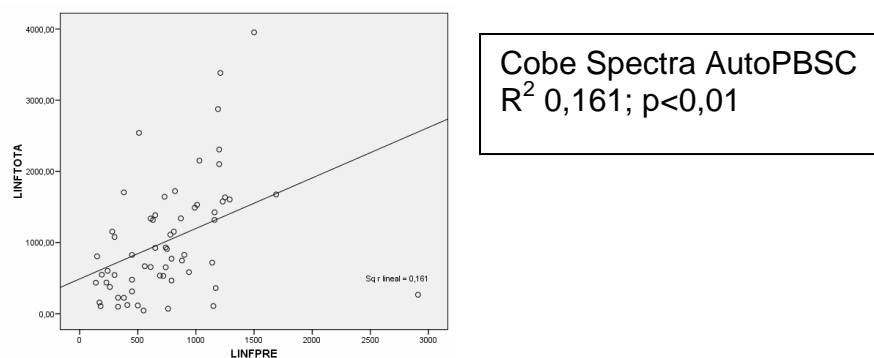
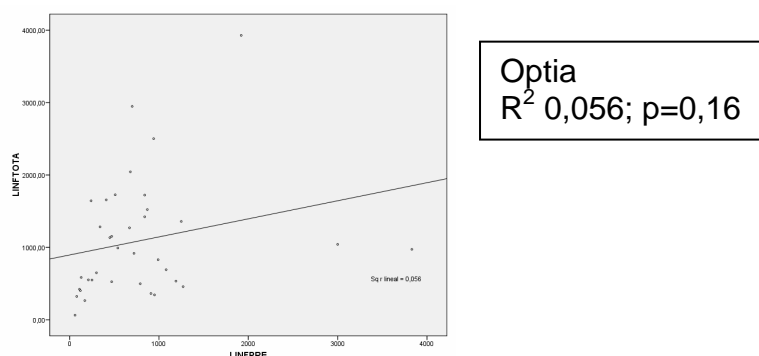


Figura 16: Relación entre el recuento de linfocitos antes del procedimiento y los linfocitos de la aféresis con el separador celular Optia.



2.2.2.- Estudio de la eficiencia de la colecta según el separador celular utilizado.

El número de procedimientos realizados con cada uno de los separadores celulares se expone en la siguiente tabla:

Tabla 29: Procedimientos de aféresis realizados según el separador celular utilizado.

Separador celular	n
CM (v. 6.1)	566
CA	66
O (v.7.2)	36

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo autoPBSC, O: Optia, v: versión

Inicialmente el separador celular utilizado en nuestro centro era Cobe Spectra modo manual (versión 6.1), de ahí que el número de procedimientos sea mayor. Posteriormente se introdujo el programa automático para Cobe Spectra autoPBSC (en el año 2008). Recientemente hemos adquirido en nuestro centro un el nuevo modelo de separador celular: Optia (versión 7.2), con el que llevamos trabajando desde abril de 2012.

En la siguiente tabla se expone la eficiencia del procedimiento en cada uno de los separadores celulares:

Tabla 30: Eficiencia de las colectas según el separador celular.

Separador celular	Media (rango)
CM (v. 6.1)	40,1 (1,2-350)
O (v.7.2)	39,3 (7,3-94,8)
CA	26,6 (1,4-99,5)

CM: Cobe Spectra modo manual, CA: Cobe Spectra modo autoPBSC, O: Optia, v: versión

La eficiencia de la colecta se relaciona con el separador celular utilizado, siendo peor con Cobe Spectra autoPBSC. Las siguientes figuras comparan la eficiencia entre los distintos separadores celulares.

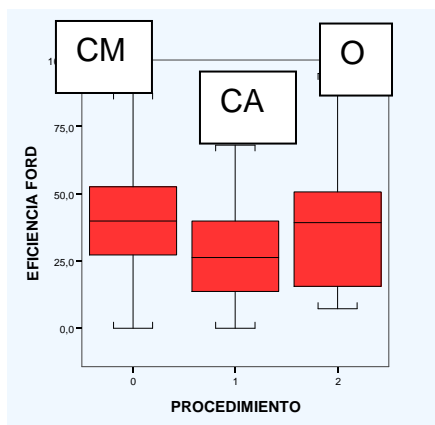


Figura 17: Comparación de la eficiencia entre los distintos separadores celulares.
 CM: Cobe Spectra manual, CA: Cobe Spectra automático, O: Optia

$p < 0,001$
 Si comparamos CM con O $\rightarrow p = 0,08$.

2.2.3.- Estudio de la eficacia de la colecta según el separador celular utilizado.

En la siguiente tabla se expone la eficacia del procedimiento con cada uno de los separadores celulares:

Tabla 31: Eficacia de la colecta según el tipo de separador celular.

Separador celular	Media (rango)
CM (v. 6.1)	79 (2-383)
O (v. 7.2)	70 (11-171)
CA	53 (2-188)

CM: Cobe Spectra manual, CA: Cobe Spectra automático, O: Optia, v: versión.

Los resultados obtenidos nos indican que la eficiencia de la colecta varía según el separador celular utilizado. Los resultados se exponen en la siguiente figura:

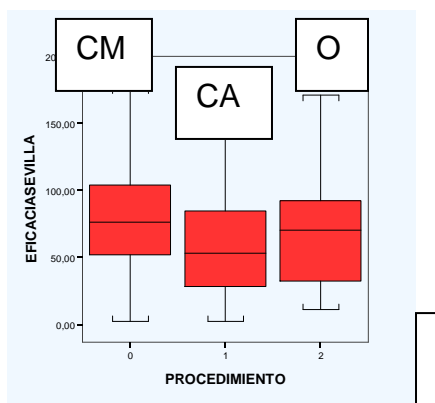


Figura 18: Comparación de la eficacia entre los distintos separadores celulares.
 CM: Cobe Spectra manual, CA: Cobe Spectra automático, O: Optia

$p < 0,001$
 Si comparamos CM con O $\rightarrow p = 0,08$.

Las variables utilizadas para el estudio de la eficiencia y de la eficacia son las siguientes:

Tabla 32: Variables utilizadas para el estudio de la eficiencia y de la eficacia entre el separador celular Cobe Spectra modo manual y automático.

VARIABLES	CM	CA	p
Tiempo (mn)	146 (40-267)	151 (100-239)	0,07
Volemia (L)	2,2 (0,5-3)	2,2 (0,6-2,2)	0,008
Volumen procesado (ml)/Kg	137 (31-255)	138 (49-181)	NS

CM: Cobe Spectra manual, CA: Cobe Spectra automático, NS: no significativo, mn: minutos, L: litros, ml: mililitros, Kg: kilogramos.

Al comparar los separadores celulares CM y CA se observa que aunque en ambos casos la mediana del volumen procesado es la misma: 2,2 ml, el procedimiento finaliza antes cuando se realiza con el separador celular Cobe Spectra modo manual.

Cuando comparamos los separadores celulares CM y O, se observa como la duración del procedimiento es menor cuando utilizamos el separador Cobe Spectra modo manual, procesándose más volemias y por lo tanto un mayor volumen por kilo de peso del paciente. Los datos se exponen en la siguiente tabla:

Tabla 33: Variables utilizadas para el estudio de la eficiencia y de la eficacia entre el separador celular Cobe Spectra modo manual y Optia.

VARIABLES	CM	O	p
Tiempo (mn)	146 (40-267)	167 (121-228)	<0,001
Volemia (L)	2,2 (0,5-3)	1,8 (1,1-2,7)	0,003
Volumen procesado (ml)/Kg	137 (31-255)	119 (79-157)	<0,001

CM: Cobe Spectra manual, O: Optia, NS: no significativo, mn: minutos, L: litros, ml: mililitros, Kg: kilogramos

3.- Estudio de la eficacia: Evaluación de la respuesta clínica del paciente

3.1.- Pacientes

Se ha estudiado la respuesta clínica de 65 pacientes, 34 niños y 31 niñas, sometidos a tratamiento con FEC desde el 1 de enero de 2003 hasta el 31 de diciembre de 2012. La mediana de edad de los pacientes fue de 11 años (6 meses-22 años); se incluyó un paciente de 22 años seguido en nuestro centro desde el diagnóstico de la enfermedad en la infancia. La mediana de peso fue de 38 Kg (6-93). Los diagnósticos de los pacientes se encuentran detallados en la tabla 13 y 14.

El estado de la enfermedad era el siguiente:

Tabla 34: Estado de la enfermedad de los pacientes sometidos a tratamiento con FEC

Estado de la enfermedad	n	%
1ª Remisión Completa	20	31
2ª Remisión Completa	14	21
>2ª Remisión Completa/Recaída	16	25
No evaluable	15	13

3.2.- Tipos de donantes.

En el caso de los donantes fueron 65. La fuente de células progenitoras hematopoyéticas utilizadas para el trasplante fue en 43 casos sangre periférica, en 13 casos médula ósea y en 9 sangre de cordón umbilical. Los donantes fueron HLA idénticos en 35 casos y HLA no idénticos en 30. Treinta y dos procedimientos fueron manipulados mediante depleción de células T y 33 se infundieron sin manipular. El tipo de donante utilizado fue en 37 ocasiones familiar y en 28 casos fue un donante no emparentado.

3.3.- Indicaciones para el inicio de tratamiento con FEC.

Las indicaciones para iniciar tratamiento con FEC, vienen determinadas por el grado de EICHa y/o EICHc de cada paciente. Cuarenta y seis pacientes (70,7%) tenían EICHa y 19 pacientes (29,3%) tenían EICHc. Los datos se exponen en la siguiente tabla:

Tabla 35: Pacientes con enfermedad injerto contra huésped aguda (EICHa) y crónica (EICHc)

EICH	n	%
EICHa	46	70,7
Grado I	1	2
Grado II	10	22
Grado III	14	30
Grado IV	21	46
EICHc	19	29,3

EICH: enfermedad injerto contra huésped, EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica,

3.4.- Métodos.

Para evaluar la respuesta clínica en los pacientes sometidos a tratamiento con FEC, hemos evaluado 775 procedimientos. El número de procedimientos es más elevado en relación con los resultados de los apartados anteriores (665 procedimientos) porque al inicio de la implantación de este tratamiento en nuestro centro no se realizaba una recogida de datos del

procedimiento de aféresis, a diferencia de la evaluación de la respuesta clínica que quedaba reflejada en la historia clínica del paciente.

De los 775 procedimientos realizados, la mediana de procedimientos por paciente es de 7 (2-84). La mediana del tiempo transcurrido entre el trasplante y el inicio del tratamiento con FEC es de 57 días (11-3.541). La mediana de seguimiento del paciente es de 31 meses.

3.4.1.- Análisis de la celularidad en la respuesta al tratamiento con FEC.

Hemos analizado si la celularidad preaféresis o infundida influye en la respuesta del tratamiento con FEC a los pacientes con EICH, no encontrando diferencias estadísticamente significativas. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 36: Análisis de la celularidad en la respuesta al tratamiento con FEC.

Mediana	Respondedores	No respondedores	p
Linfocitos preaféresis / μ L	$0,59 \times 10^3$	$0,75 \times 10^3$	0,59
Linfocitos infundidos	746×10^6	691×10^6	0,92
Linfocitos infundidos/Kg	27×10^6	26×10^6	0,5

μ l: microlitro, Kg: kilogramos

3.4.2.- Análisis de la dosis de esteroides antes y después del tratamiento con FEC

En el análisis del global de la serie se observa como los pacientes respondedores, pueden disminuir o suspender el tratamiento esteroideo al finalizar el tratamiento con FEC, siendo la diferencia estadísticamente significativa. Las variables analizadas se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 37: Análisis de la dosis de esteroides (mg/Kg/día) antes y después del tratamiento con FEC.

Pacientes	Dosis esteroides (mg/Kg) Pre-FEC	Dosis esteroides (mg/Kg) Post-FEC	p
Respondedores	2 (0,8-10)	0 (0-2)	<0,0001
No respondedores	2,5 (0,5-10)	2 (0-10)	<0,001

FEC: fotoféresis extracorpórea, mg: miligramos, Kg: kilogramos

3.4.3.- Análisis de la respuesta global.

El análisis de la respuesta global de los pacientes sometidos a tratamiento con FEC por EICHa y EICHc se resume en la siguiente tabla:

Tabla 38: Análisis de la respuesta global.

Respuesta	Completa	Parcial	No respondedores
EICHa (n=46)	27 (59%)	11 (24%)	8 (17%)
EICHc (n=19)	10 (53%)	7 (37%)	2 (10%)

EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica

Del global de la serie, un 59% de los pacientes con EICHa y un 53% de pacientes con EICHc alcanzaron respuesta completa al finalizar el tratamiento con FEC.

3.4.4.- Análisis de la respuesta por órganos.

Si analizamos la respuesta por órganos afectados en la EICHa, la piel (84%) es el órgano que mejor responde, seguido de las mucosas (67%) y los ojos (65%). El pulmón es el que tiene peor respuesta. Se exponen los datos más detalladamente en la siguiente figura:

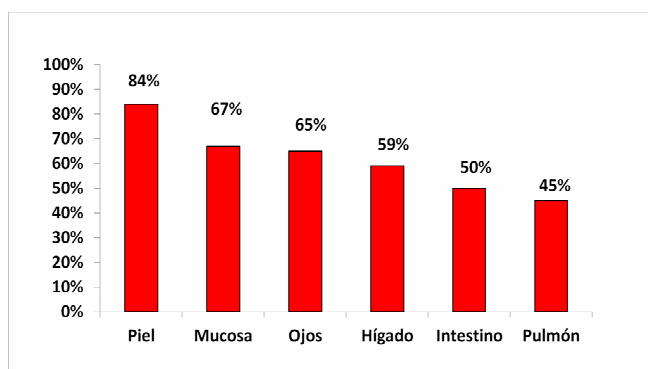


Figura 19: Respuesta por órganos en pacientes sometidos a FEC por EICHa

En el caso de los pacientes con EICHc, el órgano que mejor responde también es la piel (88%), seguido del intestino (86%) y de las mucosas (82%). La siguiente figura muestra los datos de forma más detallada:

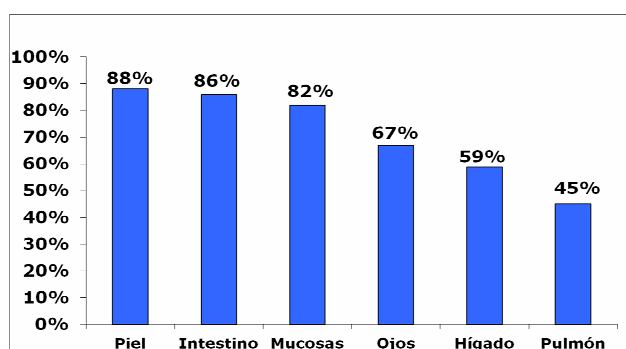


Figura 20: Respuesta por órganos en pacientes sometidos a FEC por EICHc.

3.4.5.- Análisis de la reconstitución inmune.

Otro de los datos analizados es la reconstitución del sistema inmune que tienen los pacientes postrasplantados, con EICHa o EICHc, que se encuentran en tratamiento con FEC. Las variables analizadas se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 39: Análisis de la reconstitución inmune

	Pre-FEC Mediana (rango)	Post-FEC Mediana (rango)	p
CD4	97,5 (1-744)	118 (1-908)	0,02
CD8	142,5 (1-1.536)	98 (1-1.319)	0,45
CD4/CD8	0,72 (0,08-8)	1 (0,16-4,66)	0,33
LT reg	3 (0-85)	6 (0-58)	0,04
CD4 naïve	3 (0-103)	2 (0-493)	0,051
CD4 CM	44,5 (0-210)	38 (0-168)	0,09
CD4 EM	22 (0-683)	67 (0-784)	0,01
CD4 TT	1 (0-2)	1 (0-27)	0,06

FEC: fotoféresis extracorpórea, CD4: linfocitos CD4, CD8: linfocitos CD8, LT reg: linfocitos T reguladores, CD4 CM: linfocitos CD4 con memoria central, CD4 EM: linfocitos CD4 con memoria efectora, CD4 TT: linfocitos CD4 efector terminal.

En los pacientes respondedores el cociente CD4/CD8 tras la realización del procedimiento de FEC es superior que antes de realizar el procedimiento como se muestra en la siguiente figura:

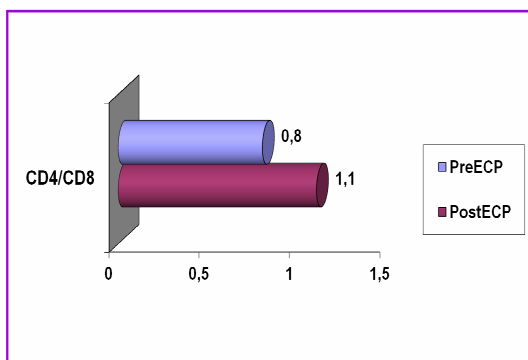


Figura 21: Relación entre el cociente CD4/CD8 antes y después del procedimiento de FEC en pacientes respondedores.

Lo mismo ocurre con las células NK y los linfocitos CD4 EM en los pacientes respondedores, y con LTreg, como se muestra en las siguientes figuras.

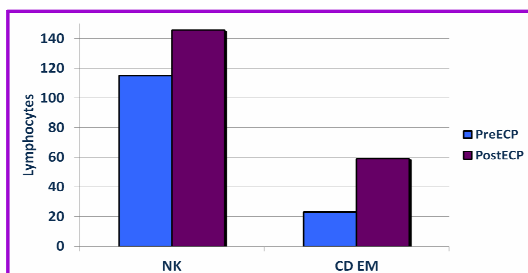


Figura 22: Relación entre las células NK y CD4 EM antes y después del procedimiento de FEC en pacientes respondedores.

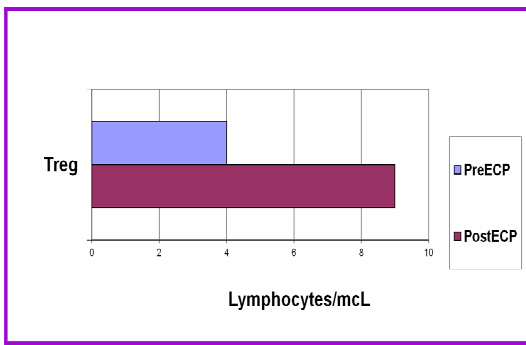


Figura 23: Relación entre los LTreg antes y después del procedimiento de FEC en pacientes respondedores.

3.4.6.- Supervivencia libre de eventos

El análisis de la supervivencia libre de eventos en la serie global de pacientes con EICH que se encuentran dentro de un programa de FEC es del 46 +/- 6%, como se expone en la siguiente figura:

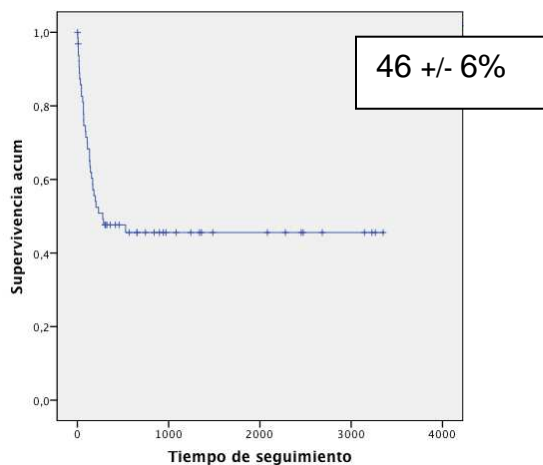


Figura 24: Supervivencia libre de eventos del global de la serie en pacientes con EICH en tratamiento con FEC.

Si analizamos la supervivencia libre de eventos en los pacientes con EICHa, observamos que a mayor grado de enfermedad menor la supervivencia. La siguiente figura se detalla la supervivencia de acuerdo a grado de EICHa:

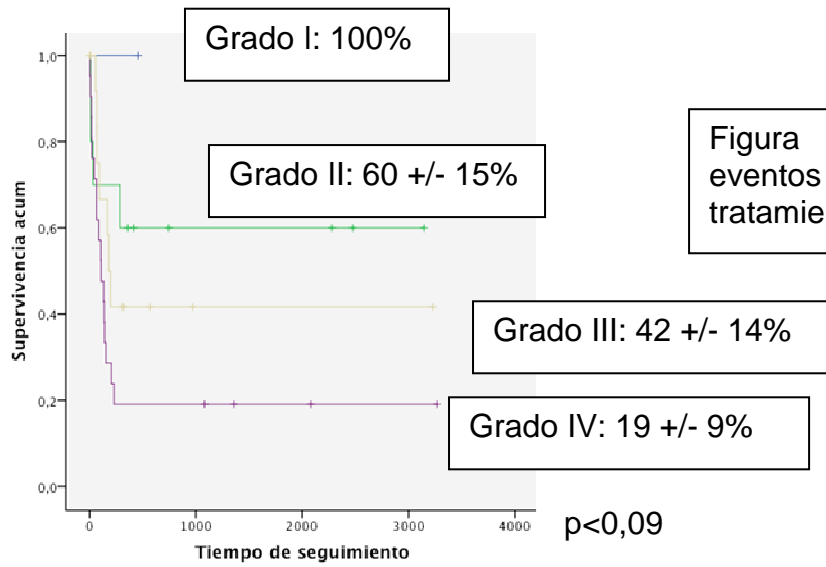


Figura 25: Supervivencia libre de eventos en pacientes con EICHa en tratamiento con FEC.

Del global de la serie, los pacientes respondedores tienen una mayor supervivencia libre de eventos (69 +/- 8%) que los pacientes no respondedores (19 +/- 8%). Los datos se muestran en la siguiente figura:

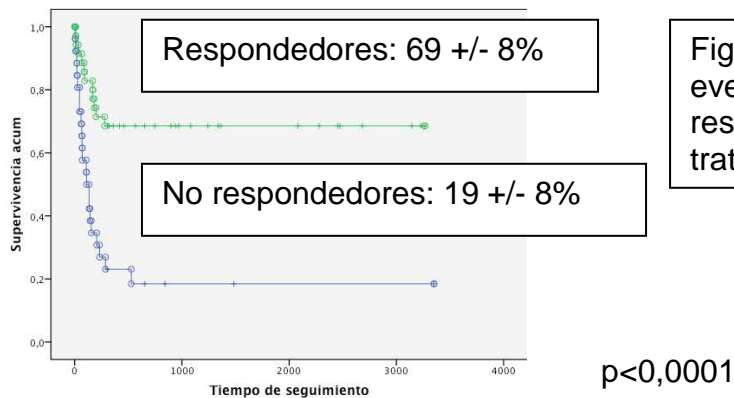


Figura 26: Supervivencia libre de eventos en pacientes con EICH respondedores y no respondedores en tratamiento con FEC.

VI. DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN

1.- Estudio de seguridad: Evaluación de los efectos adversos relacionados con la colecta.

1.1.- Efectos adversos durante la colecta y factores relacionados con su aparición.

La aparición de algún efecto adverso durante el procedimiento de aféresis en nuestra serie es del 47,5%, encontrándose discretamente disminuido en relación a otras series de pacientes pediátricos que es del 55%^(19, 20). Este porcentaje es mucho menor en adultos (entre un 4,3-12%), ya que presentan mayor volemia y mejores accesos venosos⁽¹⁹⁾. Independientemente de los efectos adversos recogidos, todos los trabajos que revisan las colectas en pacientes pediátricos, concluyen que es un procedimiento seguro y bien tolerado incluso en niños menores de 20 Kg, siempre y cuando se realicen en centros con experiencia en este tipo de procedimientos^(15-19, 40-44, 47-53, 56-57).

Como en otros centros de aféresis pediátricos^(14-19, 37, 40-44, 47-53, 56, 57), los principales problemas que nos encontramos al realizar la colecta son los accesos vasculares, por la dificultad anatómica para poder canalizar una vía periférica que nos permita mantener un flujo adecuado durante la colecta; y el escaso volumen sanguíneo de algunos de nuestro pacientes, favoreciendo la aparición de reacciones vasovagales y/o hipocalcemia secundarias a la toxicidad por el citrato. En nuestra serie, los principales efectos adversos registrados fueron los problemas relacionados con el acceso venoso (27,7%) y la hipocalcemia secundaria a la toxicidad por el citrato (12,4%). Los problemas con los accesos venosos (27,7%) son similares a otros centros (entre 22,6-39%)^(15-19, 37, 40-44, 47-50, 56). En pediatría, la colocación de un catéter venoso central para la realización de este tipo de procedimientos es mucho más habitual que en adultos. Aun así, la aparición de problemas de flujo relacionados con los accesos venosos, sigue siendo una complicación frecuente. Los más habituales son problemas con la presión de acceso al separador celular y/o retorno al paciente en un 27,7%, por la mala posición del paciente y/o por obstrucción del catéter. Todos ellos provocan una alteración del flujo de entrada/salida de la sangre, dificultando el procedimiento y alargando su duración. Existen dos posibles complicaciones adicionales relacionadas con el catéter: la infección del catéter o la trombosis. Sólo registramos un 2,7% de problemas relacionados con infección con el catéter entre todos los procedimientos realizados; este dato es similar a otras series^(16, 41) y en otros casos esta muy por debajo de lo publicado (entre 16-22%)^(19, 49). En ninguno de los casos la infección del catéter ocasionó un empeoramiento clínico del paciente. A diferencia de otras series donde el porcentaje de trombosis es del 12,4%, no registramos ningún caso de trombosis relacionada con el catéter⁽¹⁹⁾. Los problemas secundarios a la hipocalcemia por la toxicidad por el citrato en nuestro análisis fue más elevado (12,4%) que en otras series donde este porcentaje oscila entre 5,5-9,7%^(17, 19). Los síntomas registrados más frecuentes fueron las parestesias, las náuseas y/o vómitos y el dolor abdominal. De acuerdo a nuestros resultados se observa como la aparición de la toxicidad por el citrato se relaciona con el peso, la volemia y por tanto con la edad de los pacientes, siendo menos frecuentes el registro de los síntomas en

los pacientes de bajo peso. Esto podríamos explicarlo por la capacidad que tienen los niños de mayor peso, y por lo tanto mayor edad, para describir los síntomas que van apareciendo durante el procedimiento, a diferencia de los niños más pequeños. En estos casos, nos tenemos que orientar por el dolor abdominal y/o valores analíticos, siendo en muchas ocasiones infradiagnosticados. La aparición de problemas relacionados con el acceso vascular o con la toxicidad con el citrato durante la colecta, en ocasiones nos obliga a finalizar antes el procedimiento, procesando menos volumen sanguíneo. Los procedimientos de aféresis en general se asocian a efectos adversos mínimos, bien tolerados por los pacientes, incluso en niños de bajo peso^(16, 17, 43, 50). Son pocos los casos en los que hemos acabado la colecta por empeoramiento clínico grave del paciente. Sólo en se registraron efectos adversos graves en 13 procedimientos (1,9%), de los cuales se produjo hipotensión grave (tensión arterial sistólica menor a 80 mmHg) en 10 (1,5%), que se solucionaron con sueroterapia intravenosa, no precisando en ningún caso tratamiento inotrópico. Este porcentaje es mucho más bajo que el encontrado en otras series de pacientes (14%). No se registró ningún efecto adverso muy grave^(19, 43).

1.2.- Alteraciones hematológicas relacionadas con la colecta según el separador celular utilizado

Las alteraciones hematológicas antes y después del procedimiento de aféresis es otra de las variables analizadas en nuestro estudio. Para ello hemos comparado los separadores celulares utilizados en nuestro centro: Cobe Spectra modo manual (CM), Cobe Spectra modo automático: AutoPBSC (CA) y Optia (O). La pérdida de hematocrito (Hto)/ hemoglobina (Hb) es menor cuando utilizamos el separador celular Optia (Hto: 2,8% → Hb: 0,9 g/dL), siendo menor a otras series publicadas aunque la diferencia no es estadísticamente significativa. En otras series que utilizaron el separador celular Cobe Spectra, la mediana de Hb se encuentra entorno al 1,1-2,0 g/dl^(16, 17) similar a nuestros datos: Hb: 1,26 g/dL (Hto 3,8%) con CM y Hb: 1,16 g/dL (Hto 3,5%) con CA, no encontrando diferencias estadísticamente significativas.

La pérdida de plaquetas también varía según el separador celular utilizado, siendo en nuestro caso menor al utilizar el separador celular Optia (26%). Este dato también es similar a otras series donde se encuentra entre el 16-34%^(16, 17), aunque en estas series el separador celular utilizado es Cobe Spectra. En el trabajo publicado por Halle y col.⁽¹⁶⁾ la pérdida de plaquetas se relaciona con el tipo de catéter utilizado y las volemias procesadas, observando que la mayor pérdida de plaquetas (mediana 34%) es en el paciente que mas volemias se le habían realizado (mediana de 3 volemias). Analizando nuestros datos, con el separador celular Optia la pérdida de plaquetas es menor pero también hay que destacar que las volemias procesadas al utilizar este separador celular son inferiores que con Cobe Spectra (O: 1,8 vs CM: 2,2), procesando menos volumen por kilo de peso del paciente con Optia (O: 119 vs CM: 137). Por lo tanto la pérdida de plaquetas con el separador celular Optia, puede que sea menor porque se procesan menos volemias al paciente. Estos datos nos

sugieren que debemos realizar más estudios con el separador celular Optia para confirmar nuestros hallazgos.

Es importante destacar que en ningún caso se realizó soporte transfusional con hematíes ni con plaquetas por sangrado activo secundario a la pérdida de hematocrito o plaquetas tras finalizar el procedimiento de aféresis. Al igual que en otros estudios realizados, no estaría contraindicado la realización de este procedimiento en pacientes con leucopenia ni trombopenia (14, 17, 41, 43, 44). En caso de precisar soporte transfusional con concentrados de hematíes, se recomienda realizarlo antes para no interferir con la recogida de CMN. Del global de la serie reciben mayor soporte transfusional con hematíes los pacientes menores de 25 Kg, ya que el purgado del separador celular para evitar sintomatología se realiza a todos ellos. En el caso de las plaquetas, excepto si el paciente se encuentra por debajo de 15.000/ μ L, que deberíamos transfundirlo antes, también se recomienda transfundir después del procedimiento (14, 41, 43, 44).

2.- Estudio de la eficiencia: Evaluación de las variables relacionadas con la colecta

2.1.- Análisis de las variables relacionadas con la colecta

Hemos analizado las variables relacionadas con la colecta, no encontrando ninguna correlación entre el número de linfocitos infundidos con la respuesta clínica del paciente. De todas las variables analizadas, el recuento de linfocitos antes de la colecta, es la variable más estrechamente relacionada con la colecta, siendo mejores las colectas de linfocitos en aquellos pacientes que tienen un recuento de linfocitos preaféresis más elevados, sin encontrar significación estadística. Otros autores ya habían publicado la falta de evidencian científica sobre el número mínimo de CMN antes de iniciar el procedimiento (14). De todos modos, no debemos pensar que la eficacia del procedimiento es independiente de los linfocitos infundidos. Se necesitan más estudios para encontrar el número adecuado de células que deben ser tratadas para provocar respuesta clínica en el paciente (41, 44).

2.2.- Análisis de las variables relacionadas con la colecta según el separador celular utilizado

Son poco trabajos los publicados hasta la fecha que comparan las diferencias en la colecta entre los diferentes separadores celulares en población pediátrica (14, 18, 19, 41, 43, 47).

En el global de la serie hemos visto como los leucocitos y linfocitos por kilo de peso del paciente recogidos con Cobe Spectra modo manual son mayores, procesándose más volemias (2,2) en menos tiempo que con el separador celular Optia. La superioridad de Cobe Spectra manual ya ha sido publicada en otras series (16, 18, 41, 47). Pero no hay publicaciones que comparen los separadores celulares Cobe Spectra y Optia en población pediátrica. Halle y col. (16) en su serie utilizando sólo Cobe Spectra obtienen unos resultados similares a los nuestros. La única diferencia reseñable sería destacar que

la respuesta clínica es igual de buena teniendo una colecta de linfocitos por kilo de peso del paciente inferior: 3×10^7 (rango 0,08-31,2) vs 5×10^7 (rango 0,1-50) ^(16, 17). Kanold y col. ⁽⁴¹⁾ en su serie plantean como objetivo intentar recolectar más de 1×10^7 linfocitos por kilo de peso del paciente, independientemente de los linfocitos del paciente preaféresis. Nosotros cumplimos ese límite, aunque no tenemos ni existen a día de hoy protocolos que nos obliguen a una recolección mínima de linfocitos ⁽¹⁴⁾.

Al analizar la eficiencia del procedimiento según el separador celular utilizado, observamos que las colectas realizadas con Cobe Spectra modo manual son mejores que con los otros separadores celulares analizados: Cobe Spectra modo automático (AutoPBSC) y Optia.

Cuando comparamos Cobe Spectra manual frente automático, vemos que se procesa lo mismo en menos tiempo con manual, permitiendo al paciente finalizar antes el procedimiento ⁽⁴¹⁾.

Con el separador celular Optia hemos observado que procesando menos volumen, tardamos más tiempo en finalizar el procedimiento, siendo las colectas ligeramente inferiores. Este hecho lo podríamos explicar por las diferencias existentes entre ambos separadores celulares. Con Cobe Spectra manual, tenemos control manual durante todo el procedimiento del separador que trabaja con un flujo continuo, pudiendo procesar más volemias en menos tiempo. El separador celular Optia al tener un flujo discontinuo, con llenados de cámaras que no están bajo nuestro control, nos obliga a prolongar en el tiempo el procedimiento, procesando menos volumen y por lo tanto recolectando menos celularidad en muchas ocasiones.

3.3.- Estudio de la eficacia: Evaluación de la respuesta clínica del paciente

La evaluación de la respuesta clínica de los pacientes pediátricos con enfermedad injerto contra huésped en tratamiento con fotoféresis extracorpórea es compleja. Son muy pocos los centros que realizan esta línea de tratamiento, y aun menos los centros pediátricos con experiencia en este tema. Los principales problemas con los que nos encontramos con este tipo de tratamiento es la ausencia de protocolos y de parámetros estandarizados para su monitorización ^(14, 16-18, 26, 27, 41, 43, 44, 47, 48, 52). A día de hoy tan sólo existen dos estudios randomizados y se basan principalmente en pacientes adultos ^(32, 33).

En nuestra serie hemos evaluado la respuesta clínica del paciente según la celularidad infundida, la evolución de la enfermedad (según los criterios de Greinix publicados en 1.998) ⁽³⁰⁾, la reconstitución inmune y la supervivencia libre de eventos.

3.1.- Análisis de la celularidad en la respuesta al tratamiento con FEC

Actualmente no hay evidencia clínica sobre un número mínimo de células para empezar el procedimiento ni para evaluar la respuesta clínica del paciente según la celularidad del producto infundido ^(14-16, 18, 41, 43, 44, 47, 48, 52). Al igual que en otras series publicadas, no hemos encontrado ninguna relevancia clínica al analizar los linfocitos infundidos al paciente. Sólo Perseguin y col. ⁽³⁷⁾

publican que la probabilidad de fallo en el tratamiento disminuye un 20%, si se infunden al menos $100 \times 10^6/\text{Kg}$ del paciente de células mononucleadas. Se necesitan más estudios para corroborar este dato.

3.2. Análisis de la dosis de esteroides antes y después del tratamiento con FEC.

Como en otras series, el tratamiento con FEC favorece la disminución de la dosis de corticoides en los pacientes con EICH. En algunos casos incluso llegando a suspenderlos, sin progresión ni reactivación de la EICH, evitando así las complicaciones secundarias al uso prolongado de esta medicación ^(31, 32, 43, 44, 47, 48, 52).

3.3.- Análisis de la respuesta global

Al analizar la respuesta global de nuestra serie, más del 80% de los pacientes (EICHa 83% y EICHc 90%) responden a este tratamiento, siendo la respuesta completa superior al 50% de los casos al completar el tratamiento ^(14, 16-18, 43, 44, 47, 48, 52).

3.4.- Análisis de la respuesta por órganos

La piel es el órgano que mejor responde en la EICHa y EICHc en todas las series, incluida la nuestra ^(14, 16-18, 41, 43, 44, 47, 48, 52). En los pacientes con EICHa de nuestra serie, le siguen en mejor respuesta las mucosas y ojos y en EICHc intestino y mucosas. Esta diferencia de respuesta entre los diferentes órganos puede deberse a los métodos utilizados en la evaluación de la respuesta en nuestro centro, o bien porque nuestra serie es exclusivamente pediátrica.

Es muy importante el inicio precoz del tratamiento en fases iniciales de la enfermedad, para evitar complicaciones y progresión de la misma ^(14, 16-18, 43, 44, 47, 48, 52).

3.5.- Supervivencia libre de eventos

Analizando el global de la serie los pacientes que se encuentran dentro del programa de FEC tiene una supervivencia libre de eventos mayor (46 +/- 6%), siendo peor en los casos más graves, es decir, aquellos pacientes con mayor grado de EICH. Por ello podríamos decir que el inicio precoz de este tratamiento mejora la supervivencia de los pacientes con EICH. Estos resultados son similares a otras series publicadas ^(14, 16-18, 43, 44, 47, 48, 52). Si analizamos los pacientes respondedores estos tienen menor mortalidad, no sólo porque la EICH mejora o se estabiliza, sino porque además somos capaces de disminuir e incluso suspender fármacos sin que aumente la actividad del EICH. Este hecho es muy importante ya que mejoramos la calidad de vida del paciente, y evitamos los efectos adversos de éstos fármacos a largo plazo, como las alteraciones en el crecimiento, inmunosupresión, infecciones, alteraciones metabólicas, necrosis avascular del hueso, hiperglucemia o el desarrollo de segundas neoplasias.

3.6.- Análisis de la reconstitución inmune

Al analizar la reconstitución inmune de los pacientes que se encuentran en tratamiento con FEC podemos observar algunos cambios. Por un lado, los pacientes respondedores tienen aumentado el cociente de linfocitos CD4/CD8 al finalizar el procedimiento. Lo mismo ocurre con las células NK, los linfocitos CD4 EM y los LTreg. Todo ello nos hace pensar que el tratamiento con FEC tiene un efecto beneficioso sobre la reconstitución inmune aumentando la tolerancia, lo que repercute en la respuesta clínica frente a la EICH ^(18, 37, 42-44, 48, 52).

VII. CONCLUSIONES

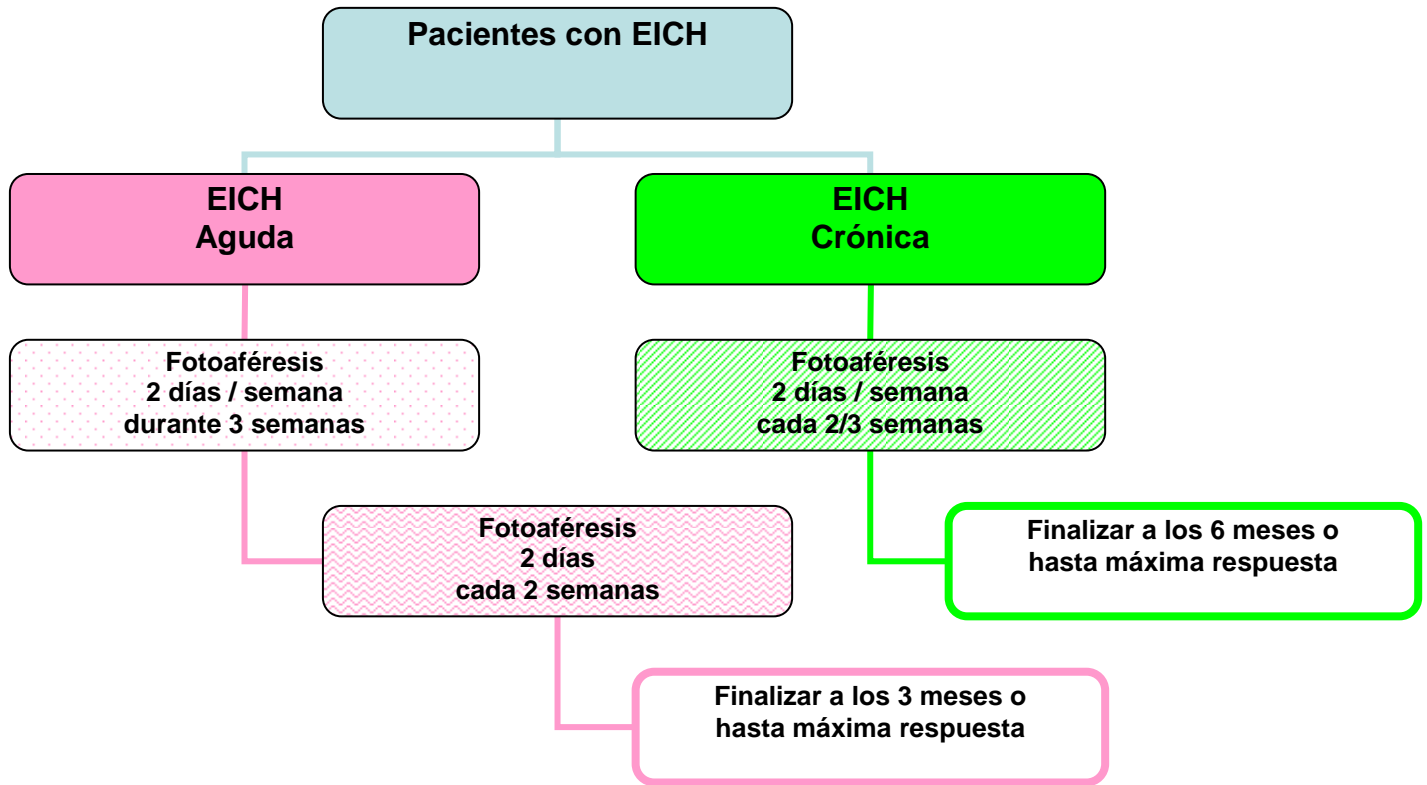
VII. CONCLUSIONES

1. La fotoféresis extracorpórea como tratamiento de la enfermedad injerto contra huésped mejora su pronóstico permitiendo la reducción del tratamiento inmunosupresor, principalmente esteroides.
2. La fotoféresis extracorpórea en pacientes pediátricos es segura y bien tolerada, incluso en los de muy bajo peso.
3. No existen diferencias relevantes en cuanto a la eficiencia del procedimiento independientemente del separador celular utilizado para su realización. Sin embargo, la pérdida de plaquetas y de hematocrito es inferior cuando utilizamos el separador celular Optia.
4. La precocidad y la regularidad de la fotoféresis extracorpórea son claves para la buena evolución clínica de los pacientes.
5. La respuesta clínica de los pacientes tratados con fotoféresis extracorpórea está relacionada con la mejora de la tolerancia inmune.

VIII. ANEXOS

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Esquema de tratamiento con FEC en pacientes pediátricos con EICH



FEC: fotoféresis extracorpórea, EICH: enfermedad injerto contra huésped

Anexo 2: Escala de Lansky/Karnofsky *

Puntuación	Escala de Lansky (pacientes <16 años)	Escala de Karnofsky (pacientes >16 años)
100	Plenamente activo.	Normal, efectúa actividades sin ayuda. No hay evidencia de enfermedad.
90	Limitación mínima en actividades físicas extenuantes.	Es capaz de llevar una vida normal, presenta signos y síntomas de enfermedad.
80	Activo, pero se cansa más rápidamente en juegos extenuantes.	Realiza actividad normal con esfuerzo, presenta signos y síntomas de la enfermedad.
70	Juega menos o dedica menos tiempo a juegos activos.	Puede cuidar de si mismo, es incapaz de trabajar o de efectuar una actividad normal.
60	Encamado hasta el 50% del día, muy pocos juegos activos con asistencia y supervisión.	Requiere asistencia ocasional, pero es capaz de realizar su cuidado personal.
50	Precisa considerable asistencia para cualquier juego activo; es capaz de participar en juegos reposados.	Requiere asistencia considerable y cuidado médico frecuente. Aun es capaz de realizar su cuidado personal.
40	Pasa la mayor parte del día en la cama; capaz de iniciar actividades reposadas.	Incapacitado, requiere asistencia y cuidado médico frecuente.
30	Frecuentemente dormido; precisa notable ayuda para realizar actividades reposadas.	Incapacitado, indicado hospitalizar aunque no hay datos de muerte inminente.
20	No juega; no se levanta de la cama; participación pasiva (mirar televisión...)	Paciente muy enfermo, es necesario la hospitalización.
10	No responde a estímulos.	Moribundo, progreso fatal rápido.
0	Éxitus.	Éxitus.

* Existen varias escalas para evaluar el estado general de los pacientes con enfermedades crónicas. Las más utilizadas son la Escala de Karnofsky (KPS) en adultos (considerando adultos a los pacientes >16 años) y la Escala de Lansky en niños (pacientes <16 años). La escala de KPS, tal vez fue la primera escala desarrollada para definir el estado funcional de los pacientes crónicos. Fue creada por el Dr. David A. Karnofsky junto al Dr. Joseph H. Burchenal en 1949. Es una escala de 10 puntos inicialmente desarrollada para pacientes con cáncer, aunque se ha aplicado a otras enfermedades crónicas. Se considera un método fiable para predecir el estado funcional del paciente, es simple y de rápida aplicación y de excelente reproducibilidad y validez. Desde su primera descripción ha sido aceptada entre los médicos, especialmente por los oncólogos, como un método de estimación del estado funcional del paciente y una medida de progresión y de desenlace de la enfermedad. La ventaja de esta escala es que es genérica y su desventaja, que es unidimensional, es decir, sólo evalúa el estado funcional y no mide las otras dimensiones de la calidad de vida. En 1987, Lansky y colaboradores decidieron crear una escala observacional del estado general de los niños con enfermedades crónicas. Esta escala evalúa el grado de autonomía del niño frente a sus actividades cotidianas y, según la edad, el nivel o grado de vigilia y su conexión con el medio, con los estímulos y sobre todo su reacción ante las personas queridas.

Anexo 3: Evaluación clínica de Enfermedad Injerto Contra Huésped

ÓRGANO/PARÁMETRO	PUNTUACIÓN
Fecha	
Piel (% sc)	Eritema, esclerosis móvil, esclerosis fija, úlceras (diámetro máximo)
Ojos (mm)	Schimmer (media del ojo derecho e izquierdo)
Boca	Escala de Schubert
Hemograma	Leucocitos x 10 ⁹ , Plaquetas x 10 ⁹ , Eosinófilos (%)
Hígado	Bilirrubina (mg/dL), ALT (UI/L); Fosfatasa alcalina (UI/L)
GI alto	Saciedad precoz, anorexia, náuseas, vómitos
Esófago	Disfagia, odinofagia
GI bajo	Diarrea
Pulmón	FEV1, DLCOc
Puntuación global	Por el médico / Por el paciente
Funcionalismo	Test de marcha 2 mn, fuerza/agarre
Estado general	Karnofsky % / Lansky % (anexo 2)

sc: superficie corporal, GI: gastrointestinal, FEV1: volumen espiratorio forzado en 1 segundo , DLCOc: capacidad de difusión, mm: milímetros, mg: miligramos, dL: decilitro, ALT: alanina transaminasa, UI: unidades internacionales, L: litro, mn: minutos

Anexo 4: Cálculo de tensión arterial en niños de acuerdo a la edad y el percentil de peso ⁽⁵⁸⁾

Edad (años)	Tensión arterial (percentil)	Tensión arterial sistólica (mmHg)							Tensión arterial diastólica (mmHg)						
		Peso (percentil)							Peso (percentil)						
		5	10	25	50	75	90	95	5	10	25	50	75	90	95
1	50	80	81	83	85	87	88	89	34	35	36	37	38	39	39
	90	94	95	97	99	100	102	103	49	50	51	52	53	53	54
	95	98	99	101	103	104	106	106	54	54	55	56	57	58	58
	99	105	106	108	110	112	113	114	61	62	63	64	65	66	66
2	50	84	85	87	88	90	92	92	39	40	41	42	43	44	44
	90	97	99	100	102	104	105	106	54	55	56	57	58	58	59
	95	101	102	104	106	108	109	110	59	59	60	61	62	63	63
	99	109	110	111	113	115	117	117	66	67	68	69	70	71	71
3	50	86	87	89	91	93	94	95	44	44	45	46	47	48	48
	90	100	101	103	105	107	108	109	59	59	60	61	62	63	63
	95	104	105	107	109	110	112	113	63	63	64	65	66	67	67
	99	111	112	114	116	118	119	120	71	71	72	73	74	75	75
4	50	88	89	91	93	95	96	97	47	48	49	50	51	51	52
	90	102	103	105	107	109	110	111	62	63	64	65	66	66	67
	95	106	107	109	111	112	114	115	66	67	68	69	70	71	71
	99	113	114	116	118	120	121	122	74	75	76	77	78	78	79
5	50	90	91	93	95	96	98	98	50	51	52	53	54	55	55
	90	104	105	106	108	110	111	112	65	66	67	68	69	69	70
	95	108	109	110	112	114	115	116	69	70	71	72	73	74	74
	99	115	116	118	120	121	123	123	77	78	79	80	81	81	82
6	50	91	92	94	96	98	99	100	53	53	54	55	56	57	57
	90	105	106	108	110	111	113	113	68	68	69	70	71	72	72
	95	109	110	112	114	115	117	117	72	72	73	74	75	76	76
	99	116	117	119	121	123	124	125	80	80	81	82	83	84	84
7	50	92	94	95	97	99	100	101	55	55	56	57	58	59	59
	90	106	107	109	111	113	114	115	70	70	71	72	73	74	74
	95	110	111	113	115	117	118	119	74	74	75	76	77	78	78
	99	117	118	120	122	124	125	126	82	82	83	84	85	86	86
8	50	94	95	97	99	100	102	102	56	57	58	59	60	60	61
	90	107	109	110	112	114	115	116	71	72	72	73	74	75	75
	95	111	112	114	116	118	119	120	75	76	77	78	79	79	80
	99	119	120	122	123	125	127	127	83	84	85	86	87	87	88
9	50	95	96	98	100	102	103	104	57	58	59	60	61	61	62
	90	109	110	112	114	115	117	118	72	73	74	75	76	76	77
	95	113	114	116	118	119	121	121	76	77	78	79	80	81	81
	99	120	121	123	125	127	128	129	84	85	86	87	88	88	89
10	50	97	98	100	102	103	105	106	58	59	60	61	61	62	63
	90	111	112	114	115	117	119	119	73	73	74	75	76	77	78
	95	115	116	117	119	121	122	123	77	78	79	80	81	81	82
	99	122	123	125	127	128	130	130	85	86	86	88	88	89	90
11	50	99	100	102	104	105	107	107	59	59	60	61	62	63	63
	90	113	114	115	117	119	120	121	74	74	75	76	77	78	78
	95	117	118	119	121	123	124	125	78	78	79	80	81	82	82
	99	124	125	127	129	130	132	132	86	86	87	88	89	90	90
12	50	101	102	104	106	108	109	110	59	60	61	62	63	63	64
	90	115	116	118	120	121	123	123	74	75	75	76	77	78	79
	95	119	120	122	123	125	127	127	78	79	80	81	82	82	83
	99	126	127	139	131	133	134	135	86	87	88	89	90	90	91

13	50	104	105	106	108	110	111	112	60	60	61	62	63	63	64
	90	117	118	120	122	124	125	126	75	75	76	77	78	79	79
	95	121	122	124	126	128	129	130	79	79	80	81	82	83	83
	99	128	130	131	133	135	136	137	87	87	88	89	90	91	91
14	50	106	107	109	111	113	114	115	60	61	62	63	64	65	65
	90	120	121	123	125	126	128	128	75	76	77	78	79	79	80
	95	124	125	127	128	130	132	132	80	80	81	82	83	84	84
	99	131	132	134	136	138	139	140	87	88	89	90	91	92	92
15	50	109	110	112	113	115	117	117	61	62	63	64	65	66	66
	90	122	124	125	127	129	130	131	76	77	78	79	80	80	81
	95	126	127	129	131	133	134	135	81	81	82	83	84	85	85
	99	134	135	136	138	140	142	142	88	89	90	91	92	93	93
16	50	111	112	114	116	118	119	120	63	63	34	35	66	67	67
	90	125	126	128	130	131	133	134	78	78	79	80	81	82	82
	95	129	130	132	134	135	137	137	82	83	83	84	85	86	87
	99	136	137	139	141	143	144	145	90	90	91	92	93	94	94
17	50	114	115	116	118	120	121	122	65	66	66	67	68	69	70
	90	127	128	130	132	134	135	136	80	80	81	82	83	84	84
	95	131	132	134	136	138	139	140	84	85	86	87	87	88	89
	99	139	140	141	143	145	146	147	92	93	93	94	95	96	97

* El percentil 90 es de 1.28 desviaciones estándar, el 95 es de 1.645 desviaciones estándar, y el 99 es de 2.326 desviaciones estándar, sobre la media.

Anexo 5: Cálculo de tensión arterial en niñas de acuerdo a la edad y el percentil de peso ⁽⁵⁸⁾

Edad (años)	Tensión arterial (percentil)	Tensión arterial sistólica (mmHg)							Tensión arterial diastólica (mmHg)						
		Peso (percentil)							Peso (percentil)						
		5	10	25	50	75	90	95	5	10	25	50	75	90	95
1	50	83	84	85	86	88	89	90	38	39	39	40	41	41	42
	90	97	97	98	100	101	102	103	52	53	53	54	55	55	56
	95	100	101	102	104	105	106	107	56	57	57	58	59	59	60
	99	108	108	109	111	112	113	114	64	64	65	65	66	67	67
2	50	85	85	87	88	89	91	91	43	44	44	45	46	46	47
	90	98	99	100	101	103	104	105	57	58	58	59	60	61	61
	95	102	103	104	105	107	108	109	61	62	62	63	64	65	65
	99	109	110	111	112	114	115	116	69	69	70	70	71	72	72
3	50	86	87	88	89	91	92	93	47	48	48	49	50	50	51
	90	100	100	102	103	104	106	106	61	62	62	63	64	64	65
	95	104	104	105	107	108	109	110	65	66	66	67	68	68	69
	99	111	111	113	114	115	116	117	73	73	74	74	75	76	76
4	50	88	88	90	91	92	94	94	50	50	51	52	52	53	54
	90	101	102	103	104	106	107	108	64	64	65	66	67	67	68
	95	105	106	107	108	110	111	112	68	68	69	70	71	71	72
	99	112	113	114	115	117	118	119	76	76	76	77	78	79	79
5	50	89	90	91	93	94	94	96	52	53	53	54	55	55	56
	90	103	103	105	106	107	109	109	66	67	67	68	69	69	70
	95	107	107	108	110	111	112	113	70	71	71	72	73	73	74
	99	114	114	116	117	118	120	120	78	78	79	79	80	81	81
6	50	91	92	93	94	96	97	98	54	54	55	56	56	57	58
	90	104	105	106	108	109	110	111	68	68	69	70	70	71	72
	95	108	109	110	111	113	114	115	72	72	73	74	74	75	76
	99	115	116	117	119	120	121	122	80	80	80	81	82	83	83
7	50	93	93	95	96	97	99	99	55	56	56	57	58	58	59
	90	106	107	108	109	111	112	113	69	70	70	71	72	72	73
	95	110	111	112	113	115	116	116	73	74	74	75	76	76	77
	99	117	118	119	120	122	123	124	81	81	82	82	83	84	84
8	50	95	95	96	98	99	100	101	57	57	57	58	59	60	60
	90	108	109	110	111	113	114	114	71	71	71	72	73	74	74
	95	112	112	114	115	116	118	118	75	75	75	76	77	78	78
	99	119	120	121	122	123	125	125	82	82	83	83	84	85	86
9	50	96	97	98	100	101	102	103	58	58	58	59	60	61	61
	90	110	110	112	113	114	116	116	72	72	72	73	74	75	75
	95	114	114	115	117	118	119	120	76	76	76	77	78	79	79
	99	121	121	123	124	125	127	127	83	83	84	84	85	86	87
10	50	98	99	100	102	103	104	105	59	59	59	60	61	62	62
	90	112	112	114	115	116	118	118	73	73	73	74	75	76	76
	95	116	116	117	119	120	121	122	77	77	77	78	79	80	80
	99	123	123	125	126	127	129	129	84	84	85	86	86	87	88
11	50	100	101	102	103	105	106	107	60	60	60	61	62	63	63
	90	114	114	116	117	118	119	120	74	74	74	75	76	77	77
	95	118	118	119	121	122	123	124	78	78	78	79	80	81	81
	99	125	125	126	128	129	130	131	85	85	86	87	87	88	89
12	50	102	103	104	105	107	108	109	61	61	61	62	63	64	64
	90	16	16	117	119	120	121	122	75	75	75	76	77	78	78

	95	119	120	121	123	124	125	126	79	79	79	80	81	82	82
	99	127	127	128	130	131	132	133	86	86	87	88	88	89	90
13	50	104	105	106	107	109	110	110	62	62	62	63	64	65	65
	90	117	118	119	121	122	123	124	76	76	76	77	78	79	79
	95	121	122	123	124	126	127	128	80	80	80	81	82	83	83
	99	128	129	130	132	133	134	135	87	87	88	89	89	90	91
14	50	106	106	107	109	110	111	112	63	63	63	64	65	66	66
	90	119	120	121	122	124	125	125	77	77	77	78	79	80	80
	95	123	123	125	126	127	129	129	81	81	81	82	83	84	84
	99	130	131	132	133	135	136	136	88	88	89	90	90	91	92
15	50	107	108	109	110	111	113	113	64	64	64	65	66	67	67
	90	120	121	122	123	125	126	127	78	78	78	79	80	81	81
	95	124	125	126	127	129	130	131	82	82	82	83	84	85	85
	99	131	132	133	134	136	137	138	89	89	90	91	91	92	93
16	50	108	108	110	111	112	114	114	64	64	65	6	66	67	68
	90	121	122	123	124	126	127	128	78	78	79	80	81	81	82
	95	125	126	127	128	130	131	132	82	82	83	84	85	85	86
	99	132	133	134	135	137	138	139	90	90	90	91	92	93	93
17	50	108	109	110	111	113	114	115	64	65	65	66	67	67	68
	90	122	122	123	125	126	127	128	78	79	79	80	81	81	82
	95	125	126	127	129	130	131	132	82	83	83	84	85	85	86
	99	133	133	134	136	137	138	139	90	90	91	91	92	93	93

*El percentil 90 es de 1.28 desviaciones estándar, el 95 es de 1.645 desviaciones estándar, y el 99 es de 2.326 desviaciones estándar, sobre la media.

IX. BIBLIOGRAFÍA

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Oliven A, Shechter Y. Extracorporeal Photopheresis: a review. *Blood reviews* 2001;15:103-108. Pathak MA, Fitzpatrick TB. The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 200 BC to 1992 AD. *J Photochem Photobiol. B. Biol.* 1992;14:3-22.
2. Roelandts R. The history of photochemotherapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1991;8:184-189.
3. Edelson R, Berger C, Gasporro F, Jegasothy B, Heald P, Wintroub B, Vonderheid E, Knobler R et al. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy. *N Engl J Med* 1987;316:297-303.
4. Ward DM. Extracorporeal photopheresis: how, when and why. *Journal of Clinical Apheresis* 2011;DOI:10.1002/jca.
5. Foss M. New insights into the mechanism of action of extracorporeal phototherapy. *Transfusion* 2006;46:6-8.
6. Spisek R, Gasovaa Z, Bartunkova J. Maturation state of dendritic cells during the extracorporeal photopheresis and its relevance for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *Transfusion* 2006;46:55-65.
7. Bethea D, Fullmer B, Syed S, Seltzer G, Tiano J, Rischko C, Gillespie L, Brown D, Gasparro FP. Psoralen photobiology and photochemotherapy: 50 years of science and medicine. *Journal of Dermatological Science*. 1999;19:78-88.
8. Rook AH, Gottlieb SL, Wolfe JT, Vowels BR, Sood SS, Niu Z, et al. Pathogenesis of cutaneous T-cell lymphoma: implications for the use of recombinant cytokines and photopheresis. *Clin Exp Immunol* 1997;(Supl.1):16-20
9. Tambur AR, Ortegell JW, Morales A, et al. Extracorporeal photopheresis induces lymphocyte but not monocyte apoptosis. *Transplant Proc* 000;32: 747-8.
10. Russell-Jones R. Shedding light in photopheresis. *Lancet* 2000; 17; 357:32-3.
11. Gatz E, Rogers CE, Clouthier SG, Lowler KP, Tawara I, Liu Ch, Reddy P, Ferrara J. Extracorporeal photopheresis reverses experimental graft-versus-host disease through regulatory T cells. *Blood* 2008;112(4):1515-21.
12. Gorgun G, Miller KB, Foss FM. Immunologic mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2002;100:941-7.
13. Pierelli L, Perseghin P, Marchetti M, Messina M, Perotti C, Mazzoni A, Bacigalupo A, Locatelli F, Carlier P, Bosi A. Extracorporeal photopheresis for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease in adults and children: best practice recommendations from an Italian Society of Hemapheresis and Cell Manipulation (SIdEM) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO) consensus process. *Societa Italiana di Emaferesi and Manipolazione Cellulare (SidEM) and Group Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO)*. *Transfusion* 2012;1-13.
14. Salvaneschi L, Perotti C, Zecca M, Bernuzzi S, Viarengo G, Giorgiani G, Del Fante C, Bergamaschi P, Maccario R, Psson A, Locatelli F. Extracorporeal photochemotherapy for treatment of acute and chronic GVHD in childhood. *Hemapheresis* 2001;41:1299-1305.
15. Halle P, Paillard C, D'Incan M, Bordigoni P, Pigué C, De Lumley L, Stephan JL, Berger M, Rapatel C, Deméocq F, Kanold J. Successful extracorporeal photochemotherapy for chronic graft-versus-host disease in pediatric patients. *Journal of hemotherapy and stem cell research* 2002;11:501-512.

16. Kanold J, Paillard C, Halle P, D'Incan M, Bordigoni P, Deméocq F. Extracorporeal photochemotherapy for graft versus host disease in pediatric patients. *Transfusion and apheresis science* 2003;28:71-80.
17. Lawitschka A, Ball L, Peters C. Nonpharmacologic treatment of chronic graft-versus-host disease in children and adolescents. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:S74-S81.
18. Milchon B, Moghrabi A, Winikoff R, Barrete S, Bernstein ML, Champagne J, David M, Duval M, Hume HA, Robitaille N, Bélisle A, Champagne MA. Complications of apheresis in children. *Hemapheresis* 2007;47:1837-1842.
19. Golestaneh L, Mokrzycky MH. Vascular acces in therapeutic apheresis: update 2013. *Journal of clinical apheresis* 2013;28:64-72.
20. Wilcox RA. Cutaneous T-cell lymphoma: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J of Hematol* 2011;86(11):928-48.
21. Atta M, Papanicolau N, Tsirigotis P. The role of extracorporeal photopheresis in the treatment of cutaneous T-cell lymphomas. *Transfusion and apheresis science* 2012; 46:195-202.
22. Schwartz J, Winters JL, Padmanabhan A, Balogun RA, Delaney M, Linenberger ML, Szczepiorkowski M, Williams ME, Wu Y, Shaz BH. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice -Evidence-Based approach from the writing committee of the American Society for Apheresis: The sixth special issue. *Journal of Clinical Apheresis* 2013;28:145-284.
23. Billingham RE. The Biology of Graft-versus-Host Reactions. *Harvey Lect* 1996-1968;62: 21-78.
24. Martin PJ, Weisdorf D, Przpiorka D, Hirschfeld S, Farrel A, Rizzo JD, Socie G, Carter S, Couriel D, Schultz KR, Flowers ME, Filipovich AH, Saliva R, Vogelsang GB, Pavletic SZ, Lee SJ. National Institute of Health Consensus Development Project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: VI. Design of clinical trials working group report. *Design of clinical trials group. Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12(5):491-505.
25. Dignan FL et al. BCSH/BSBMT Guideline : diagnosis and manegement of acute graft-versus-host disease. *Br J haematol* 2012 ;158(1) :30-45
26. Dignan FL et al. BCSH/BSBMT Guideline: diagnosis and manegement of chronic graft-versus-host disease. *Br J haematol* 2012 ;158(1) :46-61.
27. Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, Ballen K, Curtin PT, Cutler C, Litzow MR, Nieto Y, Savani BN, Schriber JR, Shaughnessy PJ, Wall DA, Carpenter PA. 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):1150-1163.
28. Wolff D, Schleuning M, Harsdorf S, Bachewr U, Gerbitz A, Stadler M, Ayuk F, Kiani A, Schwerdtfeger R, Vogelsang GB, Kobbe G, Gramatzki M, Lawitschka A, Mohty M, Pavletic SZ, Greinix H, Holler E. Consensus conference on clinical practice in chronic GVHD: second-line treatment of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplantation* 2011;17:1-17.
29. Greinix HT, Volc-Platzer B, Rabitsch W, Gmeinhardt B, Guevara-Pineda C, Kalhs P, Krutmann J, Hönigsmann H, Ciovica M, Knobler RM. Succesful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic graft-versus-host disease. *Blood* 1998;92:3098 -3104.

30. Foss FM 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):1187-1193
31. Greinix HT, Besien K, Elmaagacli AH, Hillen U, Grigg A, Knobler R, Parenti D, Reddy V, Theunissen K, Michallet M, Flowers M. progressive improvement in cutaneous and extracutaneous chronic graft-versus-host disease after 24-week course of extracorporeal photopheresis- Results of a crossover randomized study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17:1775-1782.
32. Flowers ME et al. A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus host disease. *Blood* 2008;112(7):2667-2674.
33. Malik MI, Litzow M, Hogan W, Patnaik M, Murad MH, Prokop LJ, Winters JL, Hashmi S. Extracorporeal photopheresis for chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis. *Blood Res* 2014;49:100-6.
34. Das-Gupta E, Disnan F, Shaw B, Raj K, Malladi R, Gennery A, Bonney D, Taylor P, Scarisbrick J. Extracorporeal photopheresis for treatment of adults and children with acute GVHD: UK consensus statement and review of published literature. *Bone Marrow Transplantation* 2014;49:1251-1258.
35. Dall'Amico, Messina C. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease. *Ther Apheresis* 2002;6:296-304.
36. Perseghin P, Galimberti S, Baduzzi A, Bonanomi S, Baldini V, Rovelli A, Dassi M, Rambaldi A, Castagna L, Corti P, Pogliani EM, Uderzo C. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of chronic graft-versus-host disease: trend for a possible cell dose-related effect? *Therapeutic apheresis and dialysis* 2006;11(2):85-93.
37. Miller KB, Roberts TF, Chan G, Schenkein DP, Lawrence D, Sprague K, Gorgun G, Relias V, Grodman H, Mahajan A, Foss FM. A novel reduced intensity regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation associated with a reduced incidence of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplantation* 2004;33:881-889.
38. Shaughnessy PJ, Bolwell BJ, Besien K, mistrik M, Grigg A, Dodds A, Prince HM, Durrant S, Ilhan O, Parenti D, Rogers J, Gallo J, Foss F, Apperley J, Zhang MJ, Horowitz MM, Abhyankar S. Extracorporeal photopheresis for the prevention of acute GVHD in patients undergoing standard myeloablative conditioning and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010;45(6):1068-1076.
39. Perseguin P. Extracorporeal photochemotherapy (ECP) in children. *Transfusion and apheresis science* 2013; 48:161-162.
40. Kanold J, Merlin E, Halle P, Paillard C, Marabelle A, Rapatel C, Evrad B, Berger C, Stephan JL, Galambrun C, Pigué C, D'Incan P, Bordigoni P, Deméocq F. Photopheresis in pediatric graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation: clinical practice guidelines based on field experience and review of the literature. *Transfusion* 2007;47:2276-2289.
41. Goussetis E, Varela I, Sirigotis P. Update of the mechanism of action and clinical efficacy of extracorporeal photopheresis in the treatment of acute and chronic graft versus host disease in children. *Transfusion and*

- apheresis science 2012;46:203-209.
42. Rutella S, Valentini CG, Ceccarelli S, Romano MT, Brescia LP, Milano GM, Locatelli F. Extracorporeal photopheresis for pediatric patients experiencing graft-versus-host disease (GVHD). *Transfusion and Apheresis Science* 2014;50:340-348.
43. Perotti C, Del Fante C, Tinelli C, Viarengo G, Scudeller L, Zecca M, Locatelli F, Salvaneschi L. Extracorporeal photochemotherapy in graft-versus-host disease: a longitudinal study on factors influencing the response and survival patients. *Transfusion* 2010;50:1359-1369.
44. Ludvigsson J, Samuelsson U, Ernerudh J, et al. Photopheresis at onset of type 1 diabetes: a randomised, double-blind, placebo controlled trial. *Arch Dis Child* 2001; 85: 149-54.
45. Jonson CO, Phil M, Nyholm C, Cilio CM, Ludvigsson J, Faresjo M. Regulatory T cell-associated activity in photopheresis-induced immune tolerance in recent onset type 1 diabetes children. *British Society for immunology, clinical and experimental immunology* 2008;153:174-181.
46. Chan KW. Extracorporeal photopheresis in children with graft-versus-host disease. *Journal of clinical apheresis* 2006;21:60-64.
47. Berger M, Pessonalo R, Albiani R, Asaftei S, Barat V, Carraro F, Biasin E, Madon E, Fagioli F. Extracorporeal photopheresis for steroid resistant graft versus host disease in pediatric patients. *J Pediatric Hemato Oncol* 2007;10(29):678-687.
48. Gorlin JB, Humphreys D, Kent P, Galacki D, Kevy SV, Grupp S, Diller L, Weinstein H, Grier H, Shamberger R. Pediatric large volume peripheral blood progenitor cell collections from patients under 25 kg: a primer. *Journal of Clinical Apheresis* 1996;11:195-203.
49. Messina C, Locatelli F, Lanino E, Uderzo C, Zacchello G, Cesaro S, Pillon M, Perotti C, Del Fante C, Faraci M, Rivabella L, Calore E, De Stefano P, Zecca M, Giorgiani G, Brugiolo A, Balduzzi A, Dini G, Zanesco L, Dall'Amico R. Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. *British Journal of Haematology* 2003;122:118-127.
50. González-Vicent M, Ramírez M, Pérez A, Lassaletta A, Sevilla J, Díaz MA. Extracorporeal photochemotherapy for steroid-refractory graft-versus-host disease in low-weight pediatric patients. Immunomodulatory effects and clinical outcome. *Haematologica* 2008;93(8).
51. González Vicent M, Ramírez M, Sevilla J, Abad L, Díaz MA. Analysis of clinical outcome and survival in pediatric patients undergoing extracorporeal photopheresis for the treatment of steroid-refractory GVHD. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010;32:589-593.
52. Duzovali O, Chan KW. Intensive extracorporeal photochemotherapy in pediatric patients with chronic graft-versus host disease. *Pediatr Blood cancer* 2007;48:218-221.
53. Halle P, Paillard C, Dínčan M, Bordigoni P, Piguet C, De Lumley L, et al. Successful extracorporeal photochemotherapy for chronic graft-versus-host disease in pediatric patients. *J Hematother Stem Cell Res* 2002;11:501-12.
54. Hackstein H, Misterek J, Nockher A, Reiter A, Bein G, Woessmann W. Mini buffy coat photopheresis for children and critically ill patients with extracorporeal

- photopheresis contraindications. *Transfusion* 2009;49: 2366-2373.
55. Dall'Ámico R, Rossetti F, Zulian F, Montiti G, Murer L, Andreeta B, Messina C, Baraldi E, Monesco MC, Dini G, Locatelli F, Argiolu F, Zacchello G. Photopheresis in paediatric patients with drug-resistant chronic graft-versus-host disease. *British Journal of Haematology* 1997; 97,848-854.
56. Scheiderman J, Jacobsohn DA, Collins J, Thormann K, Kletzel M. The use of fluid boluses to safely perform extracorporeal photopheresis (ECP) in low-weight children: a novel procedure. *Journal of Clinical Apheresis* 2010;25: 63-69.
57. Rocella EJ, et al. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure In Children and Adolescents. The Fourth Report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114 (2):555-576.
58. Rossetti F, Zulian F, Dall'Ámico R, Messina C, Montini G, Zacchello F. Extracorporeal photochemotherapy as single therapy for extensive, cutaneous, chronic graft-versus-host disease. *Transplantation* 1995;59: 149-151.
59. Rossetti F, Dall'Ámico R, Crovetti G, Messina C, Montini G, Dini G, Locatelli F, Argiolu F, Miniero R, Zacchello G. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease. *Transplantation* 1996;175-181.