

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

**NUEVAS ESTRATEGIAS EN LA PREVENCIÓN Y
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD INJERTO
CONTRA RECEPTOR: CICLOFOSFAMIDA
POSTRASPLANTE Y TERAPIA CON RUXOLITINIB.**

TESIS DOCTORAL

Sara Redondo Velao

Barcelona, 2023

DEPARTAMENTO DE MEDICINA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA

**NUEVAS ESTRATEGIAS EN LA PREVENCIÓN Y
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD INJERTO
CONTRA RECEPTOR: CICLOFOSFAMIDA
POSTRASPLANTE Y TERAPIA CON RUXOLITINIB.**

TESIS DOCTORAL

Sara Redondo Velao

Barcelona, 2023

DIRECTOR:

Dr. Rodrigo Martino Bofarull

TUTOR:

Prof. Jorge Sierra Gil

*"La vida es un camino que se recorre paso a paso,
disfrutando de cada paisaje y aprendiendo de cada experiencia."*

Paulo Coelho.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera recordar y agradecer...

A mi familia y amigos, en especial a mis padres y a mi hermano, por el amor y apoyo incondicional que me brindan cada día. Gracias por creer siempre en mí, y cogerme de la mano en los momentos más difíciles.

A Víctor, mi compañero de vida, juntos estamos construyendo el proyecto más bonito: formar nuestra propia familia. Gracias por ser la luz que me ha guiado a lo largo de este camino, enseñándome lo que es verdaderamente importante.

A todos los excelentes profesionales que componen el Hospital de Santa Creu i Sant Pau, en especial a los servicios de Hematología y Pediatría, por enseñarme que es posible realizar un buen trabajo en equipo. Gracias por hacerme sentir como en casa, rodeada de grandes compañeros y amigos.

Al Dr. Jordi Sierra, por la confianza que depositó en mí nada más llegar a Barcelona. Gracias por brindarme la oportunidad que llevaba tiempo buscando, y ofrecerme las herramientas junto al apoyo incondicional de la Dra. Isabel Badell para poder desarrollarme y llevar a cabo este proyecto.

Al Dr. Rodrigo Martino, por aceptar la dirección de esta tesis y permitirme trabajar a su lado al poco tiempo de llegar a Sant Pau. Gracias por su generosidad infinita, por sus sabios consejos, por contagiarme la búsqueda continua de aprendizaje, pero sobre todo por ser un gran ejemplo de entrega hacia los pacientes y familiares.

De manera muy especial, a la Dra. Irene García-Cadenas, por ser un modelo ejemplar de esfuerzo y superación constante. Gracias por devolverme la ilusión al hacerme partícipe de un gran equipo, por contagiarme sus ganas y entusiasmo de mejora continua por y para los pacientes, por sacar tiempo de dónde no hay para corregir todos los proyectos, y por los valiosos consejos a nivel personal que me han ayudado a sacar una mejor versión de mí misma. Sin ti y sin Rodrigo, esta tesis no existiría, por lo que GRACIAS.

Por último, a mi gran compañero y amigo Miguel Argüello, por apoyarme y animarme cada día a conseguir la meta. Gracias por ser la persona con la que puedo compartir ciencia y risas al mismo tiempo.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

Alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

Alo-TIR: trasplante alogénico con acondicionamiento de intensidad reducida

ALWP: grupo de trabajo de leucemia aguda

ATG: globulina antitimocítica

BAFF: Factor activador de las células B

CIBMTR: Centro internacional de investigación en trasplante de médula ósea

CMV: citomegalovirus

CPA: célula presentadora de antígeno

CsA: ciclosporina

CTLA-4: antígeno 4 asociado a células T citotóxicas

Cy: ciclofosfamida

CyPT: ciclofosfamida postrasplante

DEi: donante emparentado idéntico

DNEi: donante no emparentado idéntico

DNEm: donante no emparentado con un alelo mismatch

DRI: índice de riesgo asociado a la enfermedad

EBMT: grupo europeo de trasplante de médula ósea

EICR: enfermedad de injerto contra el receptor

EICRa: enfermedad de injerto contra el receptor aguda

EICRc: enfermedad de injerto contra el receptor crónica

EMA: Agencia Europea del Medicamento

Flu: fludarabina

FDA: “Food and Drug Administration”

FEC: fotoaféresis extracorpórea

GCSF: factor de crecimiento de colonias de granulocitos

GETH: Grupo Español de Trasplante Hematopoyético

GI: gastrointestinal

Haplo-TPH: trasplante haploidéntico

HCT-CIa: índice del riesgo asociado al trasplante ajustado por edad

HLA: antígenos leucocitarios humanos

IBMTR: Registro Internacional de Trasplantes de Médula Ósea

ICT: irradiación corporal total

ICN: inhibidor de la calcineurina

IFI: infección fúngica invasiva

ISCT: sociedad internacional de terapia celular y génica

JACIE: comité de acreditación conjunta del ISCT y el EBMT

LMA: leucemia mieloblástica aguda

LLA: leucemia linfoblástica aguda

MAGIC: consorcio internacional de la EICRa del Mount Sinai

MAT: microangiopatía trombótica

MBRP: muy buena respuesta parcial

MF: mielofibrosis

MFM: micofenolato de mofetilo

MRT: mortalidad relacionada con el trasplante

mTOR: proteína que controla la división y supervivencia celular, diana de la rapamicina

MTX: metotrexato

NIH: instituto nacional de la salud de los Estados Unidos

ONT: Organización Nacional de Trasplantes

PH: progenitores hematopoyéticos

REDMO: registro de donantes de médula ósea

RC: respuesta completa

RP: respuesta parcial

SMD: síndrome mielodisplásico

SG: supervivencia global

SLP: supervivencia libre de progresión

TGF β : factor de crecimiento transformante β

TNF- α : factor de necrosis tumoral α

VEB: virus Epstein-Barr

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	17
ABSTRACT	21
1. INTRODUCCIÓN	25
1.1 El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.....	27
1.1.1 <i>Reseña histórica</i>	27
1.1.2 <i>El alo-TPH en la actualidad</i>	28
1.2 EICR como principal complicación del TPH	31
1.2.1 <i>Aspectos básicos de la EICRa</i>	31
1.2.2 <i>Aspectos básicos de la EICRc</i>	36
1.2.3 <i>Impacto de las formas graves de EICR</i>	37
1.3 Evolución del TPH y asociación con la EICR	41
1.3.1 <i>Prevención de la EICR</i>	41
1.3.2 <i>Antecedentes y estrategia actual de prevención</i>	41
1.3.3 <i>Evolución de las estrategias de prevención en nuestro centro</i>	46
1.3.4 <i>Tratamiento de la EICR</i>	47
1.3.5 <i>Antecedentes y estrategia actual en la EICRa</i>	48
1.3.6 <i>Antecedentes y estrategia actual en la EICRc</i>	53
1.3.7 <i>Evolución de las estrategias de tratamiento en nuestro centro</i>	60
2. HIPÓTESIS	63
3. OBJETIVOS	67
4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES	71
4.1 Artículo 1	73
4.2 Artículo 2.....	83
5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS.....	89
6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN	97
7. CONCLUSIONES	109
8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	113
9. BIBLIOGRAFÍA.....	117
10. ANEXOS	135
10.1 Artículo 3.....	137

RESUMEN

La presente tesis doctoral recoge los resultados de tres estudios publicados en revistas internacionales especializadas en TPH que siguen un hilo argumental común en torno a la principal causa de morbilidad tras este procedimiento, la EICR. Cada uno de ellos incide en un aspecto concreto y de gran relevancia dentro de este contexto.

El primer trabajo se centra en el diseño de una nueva plataforma de alo-TPH con dosis reducidas de ciclofosfamida postrasplante (dosis total de 60 mg/kg) y tacrolimus como profilaxis farmacológica de la EICR para pacientes con mielofibrosis de alto riesgo. Los resultados del estudio se han publicado en la revista *Transplantation and Cellular Therapy* en 2023.

El segundo trabajo evalúa la eficacia y seguridad del tratamiento de rescate con ruxolitinib en pacientes multitrados con EICR crónica refractaria o dependiente de esteroides. Los resultados de este estudio se han publicado en la revista *Transplantation and Cellular Therapy* en 2022.

Por último, el tercer trabajo incluido en anexos analiza el impacto de la introducción de la ciclofosfamida postrasplante como profilaxis farmacológica en la aparición de EICR en pacientes que reciben dosis mieloablativas de ICT. El estudio se enmarca en una población homogénea de pacientes con leucemia aguda y síndrome mielodisplásico de alto riesgo. Ha sido recientemente publicado en la revista *European Journal of Haematology* en 2023.

Cada uno de estos estudios aporta información detallada y original sobre la prevención y manejo de la EICR, permitiendo una visión global de la situación actual y las posibles estrategias de mejora.

La temática elegida, tiene un especial interés, ya que, a diferencia de otros problemas clásicos asociados al procedimiento, como es la toxicidad, o la prevención y tratamiento de infecciones oportunistas, donde han aparecido avances con repercusión positiva en los resultados finales, la EICR sigue siendo el principal caballo de batalla tras el alo-TPH.

ABSTRACT

This doctoral thesis presents the findings of three studies published in international journals specializing in HSCT that revolve around the main cause of morbidity and mortality after this procedure, GVHD. Each study focuses on a specific aspect of great relevance in this context.

The first work focuses on the design of a new allo-HSCT platform with reduced post-transplant doses of cyclophosphamide (total dose of 60 mg/kg) and tacrolimus as GVHD prophylaxis for patients with high-risk myelofibrosis. It resulted in an article published in the journal *Transplantation and Cellular Therapy* in 2023.

The second paper evaluates the efficacy and safety of ruxolitinib in patients with chronic steroid-refractory/dependent GVHD. It was published in the journal *Transplantation and Cellular Therapy* in 2022.

Finally, the third paper included in the appendices, analyzes the impact of the introduction of post-transplant cyclophosphamide as GVHD prophylaxis in patients receiving myeloablative doses of TBI. The study was conducted in a homogeneous population of patients with acute leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. It was recently published in the *European Journal of Haematology* in 2023.

Each of these studies provides detailed and original information on the prevention and management of GVHD, allowing an overview of the current situation and possible strategies for improvement.

The selected topic is of particular interest, since, unlike other classic issues associated with the procedure, such as toxicity, or the prevention and treatment of opportunistic infections, where advances are positive outcomes, GVHD remains the main challenge after HSCT.

1.INTRODUCCIÓN

1.1 El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

1.1.1 Reseña histórica

El precedente histórico del trasplante de progenitores hematopoyéticos se remonta a la Segunda Guerra Mundial. Durante este periodo, se desarrollaron modelos murinos para estudiar mecanismos protectores frente a la irradiación ionizante a dosis letales¹⁻³.

Posteriormente, en 1959 el Profesor Donnall Thomas de la universidad de Columbia, desarrolla la primera modalidad de alo-TPH en humanos basada en ICT, que mostró injertos hematopoyéticos temporales y una reacción inmunológica mediada por el efecto del injerto contra las células leucémicas⁴.

Estas experiencias tuvieron lugar antes del descubrimiento del complejo mayor de histocompatibilidad genética en humanos (HLA) a finales de los 50, por B. Benacerraf, J. Dausset y G. Snell. Este hallazgo fue crucial en la historia del trasplante, ya que permitió seleccionar donantes compatibles al receptor, y por tanto obtuvo injertos duraderos disminuyendo el riesgo de desarrollar EICR letal⁵.

La modesta eficacia de la ICT como tratamiento antitumoral único, la selección de pacientes en malas condiciones clínicas y con enfermedades en fase muy avanzada, la ausencia de soporte transfusional adecuado y la inexistencia de antimicrobianos efectivos, explican el escaso éxito inicial de la mayoría de las experiencias de trasplante.

Fue a partir de la década de los 80, cuando se introdujeron una serie de avances que contribuyeron a perfilar el alo-TPH en la actualidad. Entre los más destacables, se encuentran el desarrollo de separadores celulares capaces de recolectar grandes cantidades de células de sangre periférica por McCree et al, en 1971⁶, y el reconocimiento de la EICR por Shlomchick et al, en 1999⁷, previamente conocida como enfermedad secundaria por Barnes et al, en 1957⁸.

Desde entonces y de forma sucesiva, han ido apareciendo mejoras como los acondicionamientos no mieloablativos, fuentes alternativas de progenitores, inmunosupresores más eficaces, y estrategias de manipulación de los componentes celulares que permiten eludir la barrera del HLA.

A su vez, ha resultado clave la aparición de registros de donantes y bancos de cordón umbilical universales, así como la creación de múltiples sociedades científicas, nacionales

e internacionales como el GETH, el EBMT, y el CIBMTR que estimulan el avance científico, la divulgación, y la gestión de calidad de los centros trasplantadores mediante la acreditación por parte de la JACIE.

Todos estos progresos han convertido al alo-TPH en la principal terapia curativa para un amplio grupo de pacientes con enfermedades hematológicas previamente mortales, lo que ha ampliado las indicaciones de trasplante y el grupo de potenciales candidatos⁹.

1.1.2 El alo-TPH en la actualidad

Los grandes avances logrados en las principales áreas del trasplante, incluyendo la optimización en la selección del donante, la gradación de la intensidad del acondicionamiento, la individualización de la profilaxis frente a la EICR y las infecciones oportunistas, se reflejan de forma clara en los datos de registro, que muestran un continuo incremento en su actividad en las últimas dos décadas.

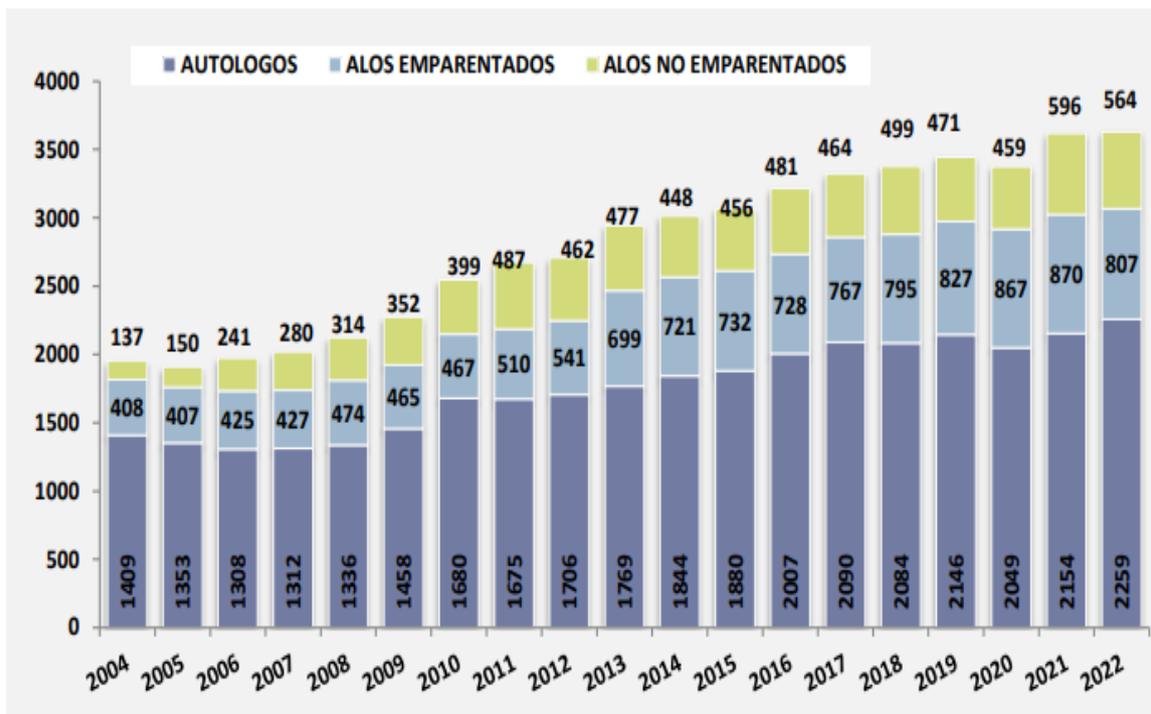
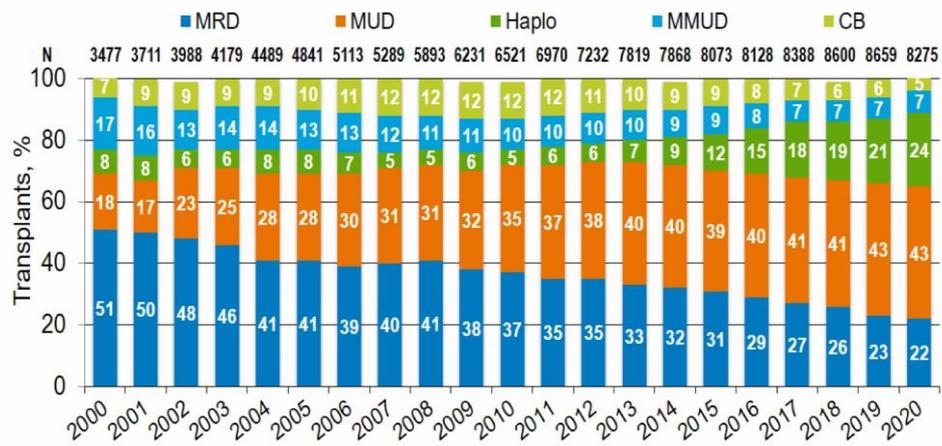


Figura: Actividad de trasplante de progenitores hematopoyéticos en España (2004-2022).

Fuente: Registro de la ONT.

Los registros revelan a su vez otros datos interesantes, como la creciente actividad en el uso de donantes no emparentados, el “boom” del trasplante haploidéntico, y la reducción de número de trasplantes no emparentados “mismatch” y de sangre de cordón.

Relative Proportion of Allogeneic HCTs in the US by Donor Type



Abbreviations - MRD: Matched related donor; MUD: Matched unrelated donor; Haplo: Haploidentical donor (includes all mismatched related donors); MMUD: Mismatched unrelated donor; CB: Cord blood

Figura: Evolución del número absoluto de los diferentes tipos de donante.

Fuente: CIBMTR website. Summary Slides, 2021.

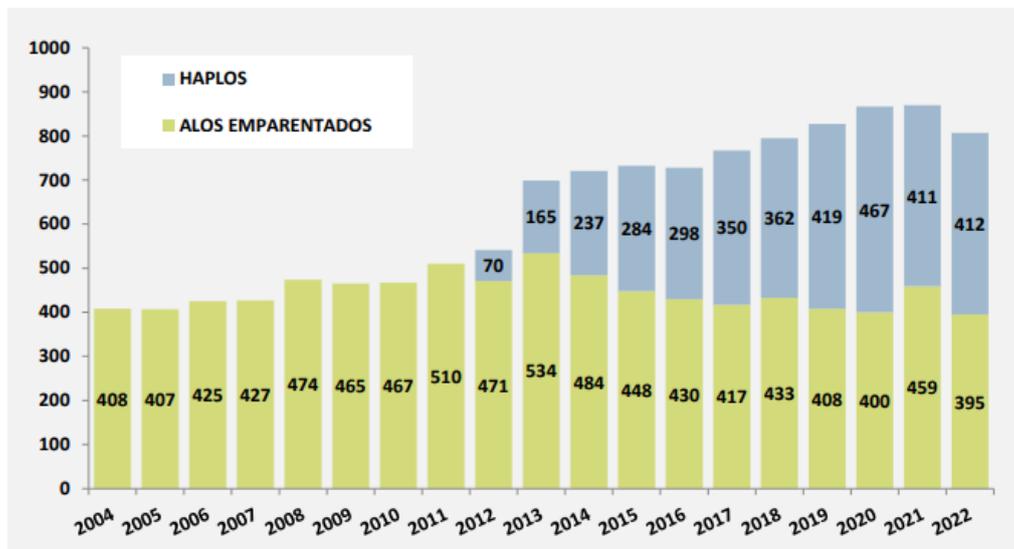


Figura: Actividad de trasplante de progenitores hematopoyéticos en España (2004-2022).

Fuente: Registro de la ONT.

Es a su vez remarcable, el incremento en el uso de modalidades de acondicionamiento de intensidad reducida, fundamentalmente en pacientes con edad media-avanzada o con comorbilidades destacables.

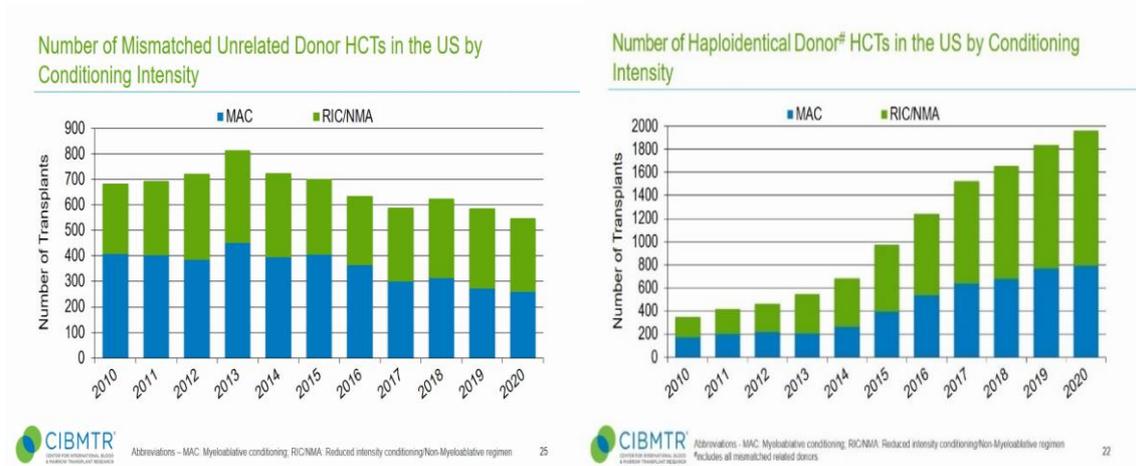


Figura: Evolución del número de Alo-TPH según la intensidad del acondicionamiento.

Fuente: CIBMTR website. Summary Slides, 2021.

Tal y como se ha comentado previamente, estos datos serían inimaginables sin el trabajo constante de múltiples sociedades científicas y registros que han logrado que la disponibilidad rápida de un buen donante se convierta en una realidad. A fecha de 2022 disponemos de 468.042 donantes disponibles en REDMO, de los cuales 263.090 tienen tipificación completa.

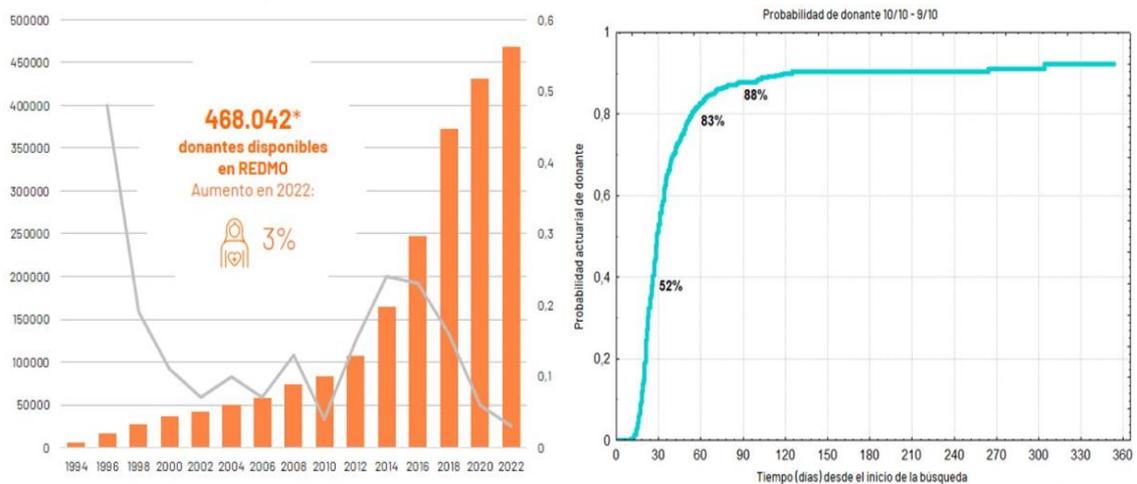


Figura: Número de donantes disponibles y probabilidad de encontrar uno desde el inicio de la búsqueda en REDMO.

Fuente: Memoria anual REDMO, 2022.

1.2 EICR como principal complicación del TPH

1.2.1 Aspectos básicos de la EICRa

La EICR sigue considerándose en la actualidad la principal causa de morbilidad en la fase precoz postrasplante a pesar del conocimiento y estudio de su fisiopatología desde hace más de medio siglo por Barnes et al, 1957¹⁰.

Inicialmente, según los resultados preliminares del grupo de Seattle, la EICRa se definió como la aparición de manifestaciones clínicas relacionadas con la aloreactividad antes del día +100 postrasplante, y la EICRc cuando aparecían de forma más tardía. Sin embargo, con el paso del tiempo, se ha evidenciado que esta definición es inadecuada. Por lo tanto, el NIH ha establecido una nueva clasificación enfocada en la forma de presentación clínica, incluyendo la EICRa de inicio tardío (después del día +100) y el “síndrome de solapamiento” u “overlap-syndrome” que contempla la presencia simultánea de características clínicas de EICR aguda y crónica^{11,12}. Ambas formas se observan con mayor frecuencia en receptores de alo-TIR y/o infusiones de linfocitos del donante.

La EICRa, es la complicación más característica del alo-TPH, y consiste en un grupo de manifestaciones clínicas e histológicas como consecuencia de la reacción inflamatoria que surge de la destrucción tisular provocada por los anticuerpos y los linfocitos T del donante, al reconocer como extraños a los antígenos del receptor.

Tal y como describió Billingham en 1966 su aparición precisa de 3 requisitos¹³:

- El injerto debe contener células inmunocompetentes. En la actualidad sabemos que se trata de linfocitos T maduros del donante presentes en el injerto.
- El receptor debe expresar antígenos tisulares no presentes en el donante. Las diferencias antigénicas del complejo principal de histocompatibilidad entre el donante y el receptor constituyen el factor de riesgo clave para el desarrollo de la EICR.
- El receptor debe presentar un grado de inmunosupresión que le haga incapaz de generar una respuesta inmune y rechazar las células del donante.

Treinta años después de que Billingham describiera las bases de la EICR, Ferrara desarrolló el modelo clásico de la fisiopatología de la EICRa, que sigue vigente y se divide en 5 fases¹⁴:

1. Degradación de los antígenos proteicos liberados del receptor por las células presentadoras de antígeno como consecuencia de la lesión tisular secundaria al tratamiento de acondicionamiento, la enfermedad de base o el desarrollo de infecciones previas, y reconocimiento tras la unión a moléculas HLA clase I o II por los linfocitos T del donante^{15,16}.
2. Activación, proliferación y co-estimulación de los linfocitos T del donante a través de las citoquinas proinflamatorias liberadas por las CPA del receptor¹⁷.
3. Expansión clonal y diferenciación de las células T alorreactivas en células citotóxicas capaces de dirigir la respuesta inmune efectora.
4. Migración de los linfocitos T activados facilitada por moléculas de adhesión celular como la selectina- E y la molécula de adhesión vascular-celular, y respuesta citotóxica en los órganos diana, fundamentalmente piel, tracto GI e hígado¹⁸.
5. Activación de las células mononucleares fagocíticas y los neutrófilos por los mediadores liberados en la fase 1. Tanto los linfocitos como los macrófagos liberan el TNF- α que produce un fenómeno de citolisis. Estudios recientes han demostrado que la muerte celular en la EICRa se lleva a cabo por un proceso de apoptosis¹⁸. Las citoquinas inflamatorias estimulan, a su vez, la producción de nuevas citoquinas por parte de los tejidos dañados. De esta forma, el daño tisular produce una amplificación constante de las señales inflamatorias perpetuando una respuesta inflamatoria fisiológica exagerada y fuera de control.

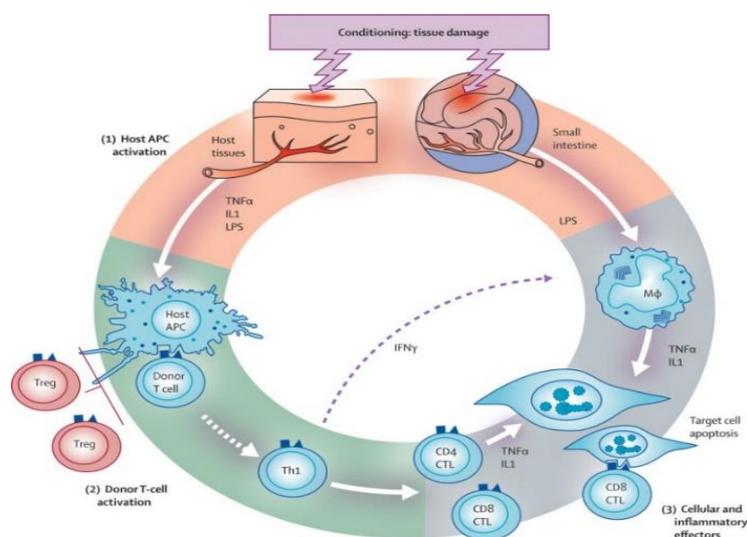


Figura: Fisiopatología de la EICRa.

Fuente: Ferrara et al, Lancet 2009.

La incidencia de EICRa oscila entre el 30-60% según las distintas series. Está directamente relacionada con el grado de disparidad HLA entre donante y receptor, oscilando entre el 35-45% en receptores de PH de hermano HLA idéntico frente al 60-80% si el donante es no emparentado y con una diferencia HLA^{19,20}. Otros factores de riesgo “clásicos” son: la edad avanzada tanto del donante como del receptor; la sangre periférica como fuente de PH respecto a la médula ósea y al cordón umbilical al contener una mayor cantidad de células T maduras con capacidad alorreactivas; la ausencia de profilaxis farmacológica adecuada; el recibir PH de una donante mujer en caso de ser un receptor varón, en particular si la donante se ha inmunizado previamente, ya sea por transfusiones o embarazos; los regímenes de acondicionamiento mieloablativo respecto a los de intensidad reducida; y la exposición previa a inhibidores de “checkpoints” como son los inhibidores de CTLA-4 y de PD-1²⁰⁻²².

En los últimos años, muchos grupos investigadores centran sus esfuerzos en la identificación de factores de riesgo “no clásicos”, como son la identificación de polimorfismos de genes implicados en la reacción inflamatoria y en la respuesta inmune tanto en el receptor como en el donante, que permitan una mejor definición del riesgo individual de desarrollo de la EICR de cara a un mejor ajuste de la profilaxis^{23,24}.

Los principales órganos afectados en la EICRa son la piel, el hígado y el intestino. Siendo la piel la más frecuentemente afectada con una incidencia de hasta el 81%, seguido del tracto gastrointestinal del 54% y del hígado con un 50%²⁵.

El diagnóstico de EICRa se basa en las manifestaciones clínicas, aunque es muy recomendable la confirmación histopatológica. La sintomatología asociada a la EICR como el “rash” maculopapular, náuseas, diarreas, e ictericia, puede ser francamente difícil de diferenciar de otras causas como la toxicidad farmacológica, o las infecciones. Por esta razón, en la última década se han centrado los esfuerzos en la búsqueda y validación de biomarcadores específicos que confirmen el diagnóstico y faciliten su detección precoz.

Existen varios grados de EICRa en función de la afectación de los diferentes órganos y su gravedad. Se han utilizado varios sistemas de gradación que han demostrado su capacidad pronóstica y de asociación con los resultados del alo-TPH a largo plazo.

Los dos sistemas de clasificación clásicos de EICRa son el grado de Glucksberg descrito en 1974²⁶, con una modificación posterior en una conferencia de consenso en 1994, y el del IBMTR²⁷ de 1997. Ambas clasificaciones predicen de forma similar la mortalidad en

función del grado de la EICR. Estos sistemas de gradación tienen limitaciones, de hecho, es frecuente que la gradación varíe considerablemente entre diferentes centros e incluso haya falta de concordancia al ser evaluados por revisores independientes.

La clasificación MAGIC publicada en 2016 por el *Mount Sinai Acute GVHD International Consortium*²⁸ surge para estandarizar el diagnóstico y la estadificación clínica de la EICRa. Una de las diferencias con la clasificación Glucksberg es que no exige biopsia para el diagnóstico de EICRa de tracto gastrointestinal alto, y facilita la cuantificación del volumen de las diarreas al contemplar no solo el volumen sino también el número de deposiciones al día. Actualmente es la más utilizada ya que los criterios están sujetos a menos subjetividad, y facilita la gradación.

Severidad		Glucksberg		CIBMTR		MAGIC
Leve	I	Piel estadio 1-2.	A	Piel estadio 1.	I	Piel estadio 1-2.
Moderado	II	Piel estadio 3; hígado o GI estadio 1.	B	Piel estadio 2; hígado o GI estadio 1-2.	II	Piel estadio 3 y/o hígado estadio 1 y/o GI alto estadio 1 y/o GI bajo estadio 1.
Grave	III	Hígado estadio 2-3; GI 2-4.	C	Piel estadio 3; hígado o GI estadio 3.	III	Hígado estadio 2-3 y/o GI bajo estadio 2-3 con piel estadio 0-3 y/o GI alto estadio 0-1
Muy grave	IV	Piel estadio 4; hígado estadio 4.	D	Piel estadio 4; hígado o GI estadio 4.	IV	Estadio 4 piel, hígado o GI bajo, con estadio 0-1 GI alto

Tabla: Gradación clínica global de la EICRa²⁶⁻²⁸.

El índice de gravedad de Minnesota²⁹ diseñado con el objetivo de predecir la respuesta al tratamiento en función del número y de la gravedad de los órganos afectados. Define dos grupos de riesgo, estándar y alto riesgo, siendo la probabilidad de respuesta al tratamiento a los 28 días significativamente inferior en los pacientes de alto riesgo (44% vs. 68%), lo cual se asocia a una mayor mortalidad (riesgo relativo 2.1).

Índice de gravedad de Minnesota	
Riesgo Estándar	<p>Un solo órgano afecto</p> <ul style="list-style-type: none"> • Piel estadios 1-3 • GI estadios 1-2 (incluye GI alto aislado, intestinal grados 1-2 aislado, o GI alto y bajo grado 1) <p>Dos órganos afectados</p> <ul style="list-style-type: none"> • Piel estadios 1-3 + GI estadio 1 (incluye GI alto aislado, intestinal grado 1 aislado o GI alto y bajo grado 1) • Piel estadios 1-3 + hígado estadios 1-4
Riesgo Alto	<p>Un solo órgano afecto</p> <ul style="list-style-type: none"> • Piel estadio 4 • GI estadios 3-4 • Hígado estadios 1-4 <p>Dos órganos afectados</p> <ul style="list-style-type: none"> • Piel estadios 1-3 + GI estadio 2 • GI bajo estadios 1-2 + hígado estadios 1-3 • GI estadios 3-4 + piel estadios 1-3 • GI estadios 3-4 + hígado estadios 1-4 <p>Tres órganos afectados</p> <ul style="list-style-type: none"> • Piel estadios 1-3 +GI estadios 1-2 + hígado estadios 1-3 • Piel estadios 1-3 +GI estadios 3-4 + hígado estadios 1-4

Tabla: Índice de gravedad Minnesota²⁹.

La clasificación Ann Arbor³⁰ basada en tres biomarcadores plasmáticos (TNFR1, ST2, y Reg3 α) y el algoritmo MAP³¹ de probabilidad de MRT a 6 meses en base a la incorporación de dos biomarcadores proteicos dentro de la clasificación MAGIC (ST2, y Reg3 α), permiten clasificar a los pacientes en tres grupos de acuerdo con la probabilidad de respuesta a 28 días de tratamiento con esteroides, y la mortalidad a 6 meses. Actualmente estos biomarcadores están validados, pendientes de su aplicación en la práctica clínica diaria.

Biomarcadores TNFR1, ST2, y Reg3 α	
Probabilidad de respuesta a día 28	<ul style="list-style-type: none"> • Ann Arbor score 1: 86% • Ann Arbor score 2: 67% • Ann Arbor score 3: 46%
Incidencia acumulada de MRT a 6 meses	<ul style="list-style-type: none"> • Ann Arbor score 1: 8% • Ann Arbor score 2: 27% • Ann Arbor score 3: 46%

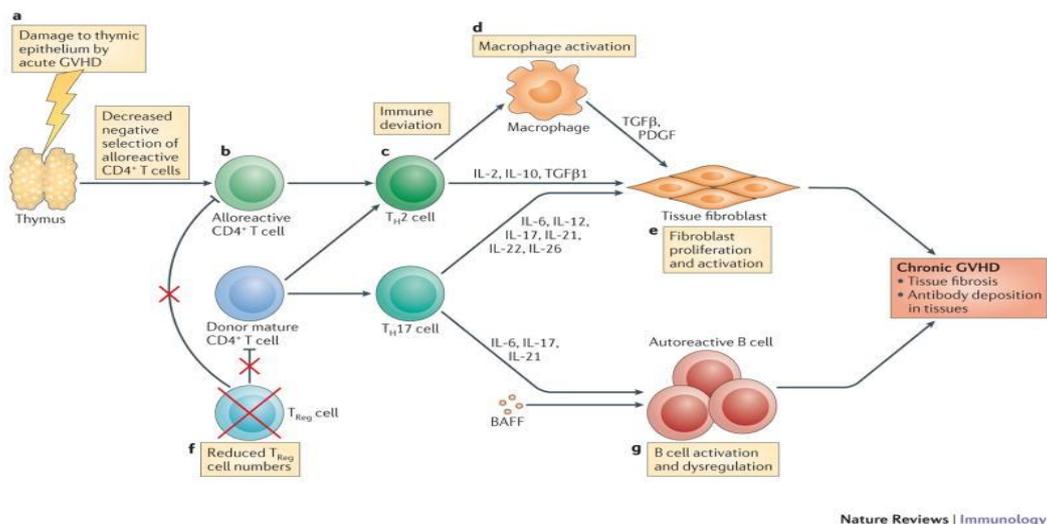
Tabla: Clasificación Ann Arbor³⁰.

1.2.2 Aspectos básicos de la EICRc

La EICRc es la complicación más frecuente a largo plazo después del alo-TPH impactando no sólo en la supervivencia, sino también, en la calidad de vida de los pacientes, ya que puede causar daños orgánicos irreversibles, así como la disfunción del sistema inmune.

La fisiopatología de la EICRc comienza con la destrucción tímica³² por parte de los regímenes de acondicionamiento y los linfocitos T aloreactivos del donante producidos en caso de desarrollo de la EICRa, lo que conduce a una reconstitución inmunitaria alterada favoreciendo la selección de células T autorreactivas polarizadas hacia linajes Th17 y Th2 que liberan citocinas fibrogénicas como IL-2, IL-10 y TGFβ las cuales activan macrófagos y fibroblastos tisulares. Además, la disminución de los niveles de linfocitos T reguladores y la activación y desregulación de linfocitos B autorreactivos, debido a niveles elevados de BAFF en el microambiente, perpetúan un “síndrome sistémico autoinmune” asociado a cambios fibróticos que pueden afectar a más de un órgano, siendo los más frecuentes la piel (67%), mucosa oral (60%), ocular (48%), pulmones (50%), hígado (52%), articulaciones (48%), tracto gastrointestinal (30%), y genital (12%).

La incidencia oscila entre el 20-85 % en función de las series y los factores de riesgo clásicamente descritos. Por lo general, suele aparecer en los primeros 6 meses postrasplante.



Nature Reviews | Immunology

Figura: Fisiopatología de la EICRc.

Fuente: Blazar et al, Nature Rev 2012.

De acuerdo con los criterios diagnósticos de consenso del NIH, las manifestaciones clínicas se clasifican como “diagnósticas” o “distintivas”. Las manifestaciones diagnósticas son aquellas que establecen el diagnóstico de la EICRc sin necesidad de más investigación como la realización de biopsia, test de laboratorios, test de función pulmonar, y/o pruebas de imagen. Por el contrario, las manifestaciones distintivas se observan en pacientes con EICRc y están ausentes en pacientes con EICRa, pero requieren más investigación para confirmar el diagnóstico.

El diagnóstico, la evaluación de la gravedad y el seguimiento de un paciente con EICRc es complejo. La experiencia del médico examinador, así como la de los distintos especialistas son factores clave en el manejo de estos pacientes. Se recomienda realizar una evaluación protocolizada por órganos y sistemas, siguiendo los criterios diagnósticos y de gravedad establecidos por el grupo de expertos del NIH del 2014 revisados en 2020^{33,34} en el que se incluye la valoración de 8 órganos o áreas (piel, boca, ojos, tracto GI, hígado, pulmón, articulaciones, y tracto genital) para calcular el score global en función del número de órganos afectados y la severidad de afectación de estos.

Severidad	
Leve	1 o 2 órganos afectados (score máximo 1) + Pulmón score 0
Moderado	>3 órganos afectados (score máximo de 1) o Al menos 1 órgano (no pulmón) afecto con score 2 o Afectación pulmonar (score 1)
Grave	Al menos 1 órgano afecto con score 3 o Afectación pulmonar (score >2)

Tabla: Gradación clínica global de la EICRc según el NIH global scoring system^{33,34}.

1.2.3 Impacto de las formas graves de EICR

A pesar de los avances en la optimización de la selección del donante, la gradación de la intensidad del acondicionamiento y la individualización de la profilaxis, que han supuesto una reducción de la incidencia y gravedad de la EICR aguda y crónica, esta complicación sigue siendo la segunda causa de MRT precoz y tardía después de las infecciones^{21,35}.

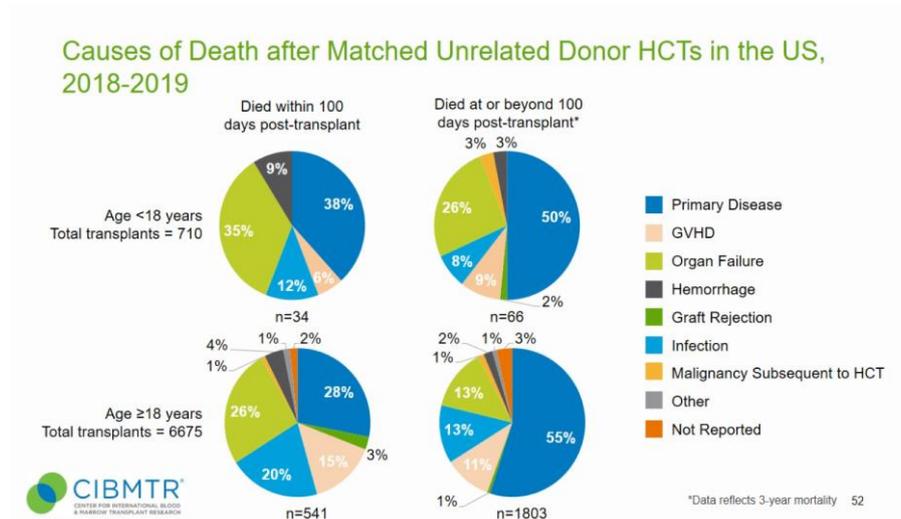
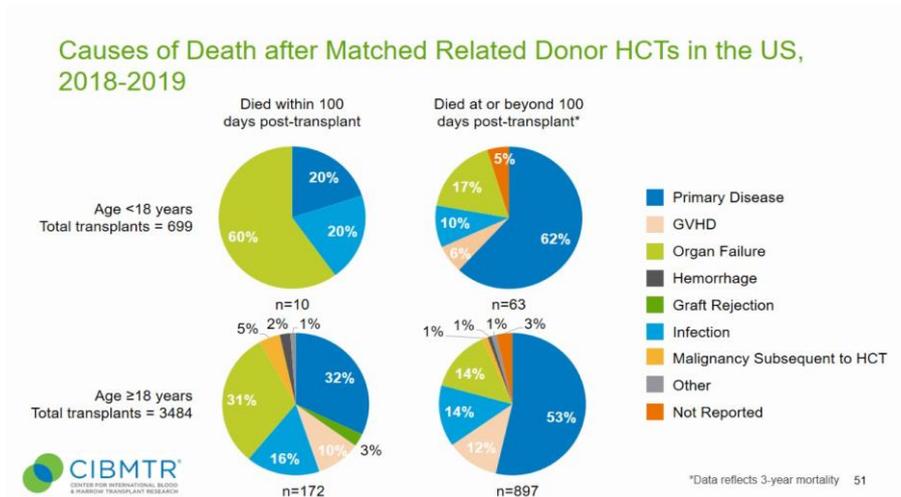


Figura. Causas de mortalidad tras el Alo-TPH en receptores de un DE y DNE.
Fuente: CIBMTR website. Summary Slides, 2021.

En el estudio reciente realizado por el EBMT³⁵, que analiza la mejora de la tasa de MRT desde los años 80 hasta 2016, se observa que uno de los factores que ha contribuido a esta reducción es la disminución en la incidencia y gravedad de la EICRa de grado II-IV y III-IV.

La MRT secundaria a la EICRa está influenciada por diversos factores, tales como el grado global de afectación^{26,27}, y la respuesta inicial a esteroides²⁹⁻³¹. En el reciente estudio de MacMillan et al, se observó que la MRT a 6 meses fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con EICRa de alto riesgo (según la clasificación de Minnesota), con un 34% (IC 95%, 23%-45%) vs. al 21% en el grupo de riesgo estándar (IC 95%, 16%-25%), ($p < 0.01$). Además, fue superior en el grupo de no respondedores a

esteroides a los 28 días del tratamiento, con un 44% (IC 95%, 32%-55%) vs. al 16% (IC 95%, 6%-27%) y al 13% (IC 95%, 9%-18%) en aquellos pacientes que alcanzaron una RP o RC, respectivamente ($p < 0.01$).

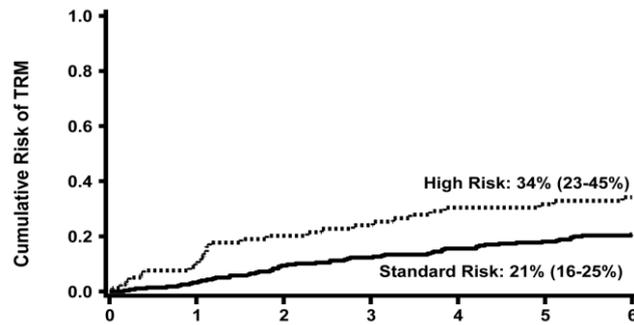


Figura: MRT en función de la clasificación de gravedad de Minnesota de la EICRa.

Fuente: MacMillan et al, Haematologica 2020.

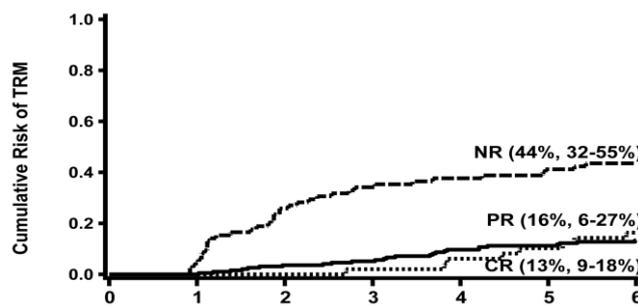


Figura: MRT en función de la respuesta a esteroides en la EICRa (NR=no respondedores; PR=respuesta parcial; RC=respuesta completa).

Fuente: MacMillan et al, Haematologica 2020.

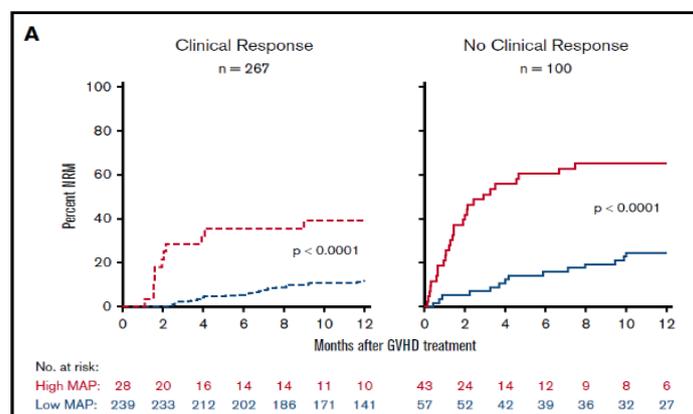


Figura: Predicción de la MRT en función de la probabilidad MAP y la respuesta a esteroides en la EICRa.

Fuente: Srinagesh et al, Blood Adv. 2019.

La MRT secundaria a la EICRc no se ha estabilizado, si no que ha aumentado con el paso de los años debido al aumento de la incidencia de la EICRc *per se* en pacientes largos supervivientes, y de edad más avanzada. Todo ello, ha condicionado un aumento de muertes tardías por EICRc, por infecciones debido al estado de inmunosupresión secundario al tratamiento de la EICRc, y por fallo orgánico³⁵. Siendo las formas moderadas-graves de la EICRc, como la afectación cutánea extensa (score 2-3 del NIH) y pulmonar grave (score 2-3 del NIH), las que se han asociado a una mayor MRT.

En el reciente estudio prospectivo multicéntrico observacional del consorcio internacional de la EICRc, la incidencia acumulada de MRT al año fue del 7% (IC 95%, 6%-9%), a los 3 años del 15% (IC 95%, 13%-17%) y a los 5 años del 22% (IC 95%, 19%-25%)³⁶. La causa más frecuente de MRT fue la EICRc (37,8%) asociada a insuficiencia orgánica, infección o causas adicionales no especificadas. Las siguientes causas identificadas más frecuentes sin EICRc fueron la infección (16,9%), insuficiencia respiratoria (9,6%) y el fallo multiorgánico (5,6%).

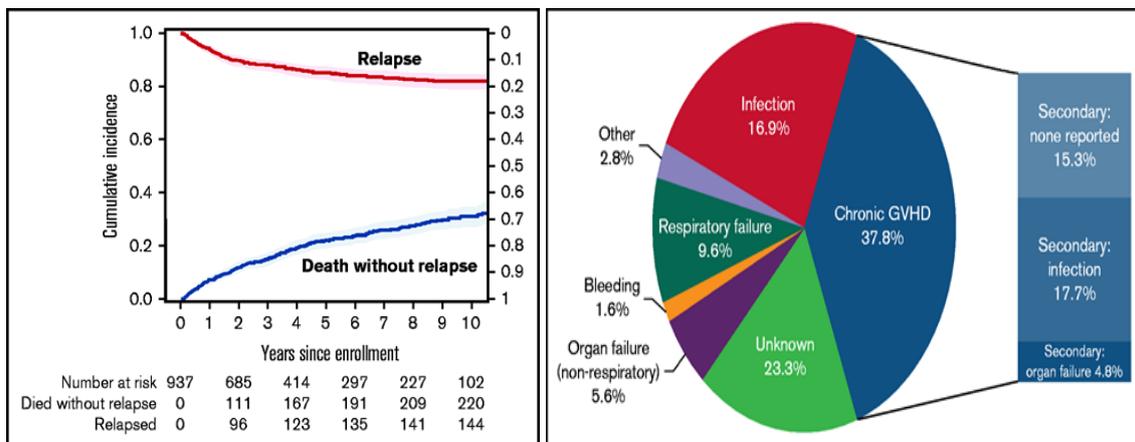


Figura: Incidencia de MRT en pacientes con EICRc.

Fuente: DeFilipp et al, Blood Adv. 2021.

Por lo tanto, prevenir la aparición de la EICR, mejorar el diagnóstico y pronóstico con la ayuda de biomarcadores, así como optimizar el tratamiento, representa un desafío constante debido a la alta mortalidad que aún asocia esta complicación.

1.3 Evolución del TPH y asociación con la EICR

1.3.1 Prevención de la EICR

La mayor parte de estrategias preventivas centran sus esfuerzos en evitar la aparición de las formas de presentación de EICRa, que es a su vez el principal factor de riesgo asociado al desarrollo posterior de EICRc.

Se han ido introduciendo diferentes estrategias preventivas entre las que destaca la optimización en la selección del donante HLA compatible, priorización del uso de donantes varones y jóvenes, y consideración de la combinación de serologías donante-receptor frente al CMV, así como diferentes estrategias de profilaxis farmacológicas.

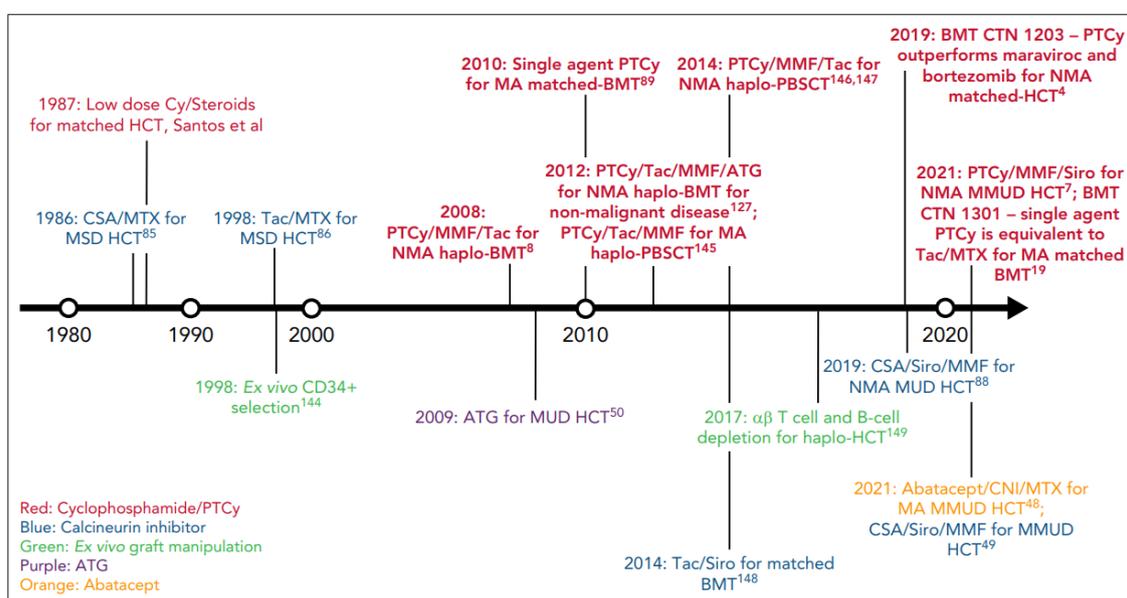


Figura: Cronología de las estrategias de profilaxis de la EICR en pacientes sometidos a ALo-TPH.

Fuente: J. Rimando et al; Blood 2023.

1.3.2 Antecedentes y estrategia actual de prevención

Desde mediados de los años 80, la CsA, un ICN, en combinación con un ciclo corto de MTX se ha utilizado como profilaxis clásica de la EICR en los alo-TPH de DEi³⁷.

Con el objetivo de mejorar los resultados, se han probado varias estrategias, entre ellas la adición de corticoides a la profilaxis con CsA-MTX. Esta combinación, disminuía la aparición de EICRa grado II-IV de forma significativa, pero se asociaba a un incremento

destacable en la incidencia de infecciones oportunistas, y por tanto no comportó un impacto positivo en los resultados finales del TPH³⁸.

Posteriormente, a finales de los años 90, varios ensayos aleatorizados mostraron que la combinación de tacrolimus y MTX reducía la incidencia global de EICRa en comparación con CsA-MTX, sin cambios en la EICRc ni en la SG. Por lo tanto, a raíz de estos resultados muchos centros europeos implementaron el uso de tacrolimus como fármaco estándar³⁹⁻⁴¹ en la profilaxis de la EICR.

Varios estudios prospectivos posteriores han comparado MFM y MTX en combinación con CsA reportando una incidencia similar de EICRa con ambos esquemas con aparente mejoría en la velocidad de adquisición del injerto hematopoyético y menor severidad de la mucositis en el grupo de MFM^{42,43}. La importancia de acortar al máximo la fase de neutropenia y reducir toxicidades, convirtieron al MFM en un fármaco de especial interés en el trasplante de sangre de cordón y en el alo-TIR.

Fueron surgiendo otras combinaciones como sirolimus-tacrolimus, un inhibidor de la vía mTOR que bloquea la entrada en ciclo celular de los linfocitos T naive, inhibiendo de forma selectiva los linfocitos T aloreactivos junto a un ICN. Esta combinación fue especialmente eficaz en receptores de alo-TIR⁴⁴, al conducir a una reducción en la tasa de EICRc y a una mejoría en la SG. Sin embargo, el daño endotelial asociado a la coadministración de ambos fármacos, con un posible aumento en el número de MAT fue el principal factor limitante. Debido a esto, algunos centros se mostraron cautos en su uso rutinario.

Tras conocer el papel de los linfocitos T en la fisiopatología de la EICR, varios grupos demostraron la eficacia de las estrategias de manipulación del injerto, ya fuese mediante técnicas de depleción T *ex vivo*, como la selección negativa de linfocitos T o positiva de células CD34⁺⁴⁵, con el fin de reducir la incidencia de la EICR. Sin embargo, la mayoría de estas estrategias tienen como contrapartida el retraso en la reconstitución inmune y un consiguiente incremento en el riesgo de fallo de injerto, recaída e infecciones oportunistas, incluyendo casos de síndrome linfoproliferativo postrasplante asociado al VEB.

La administración *in vivo* de anticuerpos dirigidos frente a los linfocitos T para prevenir la EICR también ha sido ampliamente estudiada. El fármaco más utilizado fue la ATG, introducida inicialmente en 2009 a dosis bajas en alo-TPH de DNEM, mostrando

reducción de la EICRa grado II-IV y III-IV, así como de la MRT⁴⁶. Estudios posteriores mostraron reducción de la incidencia de EICRa grado II-IV y III-IV, así como de la EICRc extensa tras introducirla en el acondicionamiento mieloblástico, sin que la MRT ni la supervivencia global se vieran modificadas^{47,48}. Por lo que según las encuestas del EBMT⁴⁹, el 75% de los centros participantes introdujeron el ATG peri-acondicionamiento fundamentalmente en receptores de trasplante de DNE.

En 1963, Berenbaum publicó los primeros estudios evaluando la ciclofosfamida en modelos murinos⁵⁰. En 2008 el grupo del Hospital Johns Hopkins, liderado por el Dr. Luznik, fue pionero en la introducción de la CyPT a dosis de 50mg/kg los días +3 y +4 como profilaxis de la EICR en pacientes con hemopatías malignas receptores de un haplo-TPH⁵¹, tras refinar los resultados obtenidos en modelos murinos en 2001^{52,53}.

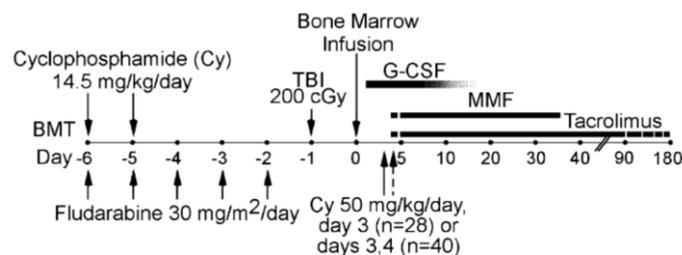


Figura: Esquema del modelo de TPH haploidéntico de intensidad reducida con CyPT.

Fuente: Luznik et al, Biol Blood Marrow Transplant 2008.

La administración de este agente alquilante clásico en las etapas tempranas posteriores al trasplante permite el establecimiento de un quimerismo mixto estable, en el cual coexisten células tanto del donante como del receptor, a pesar de las marcadas diferencias HLA entre ambos, con tasas reducidas de la EICR.

El efecto de la CyPT se basa en su capacidad para afectar selectivamente a las células aloreactivas que tienen una alta tasa de proliferación y una menor capacidad de reparación del ADN. Esto provoca un desequilibrio a favor de los linfocitos T reguladores. Por otro lado, las células madre hematopoyéticas, que son ricas en aldehído deshidrogenasa, son resistentes a los efectos de la ciclofosfamida. Por lo tanto, este fármaco puede ser administrado después del trasplante alogénico de médula ósea sin dañar el injerto ni comprometer la reconstitución inmune^{54,55}.

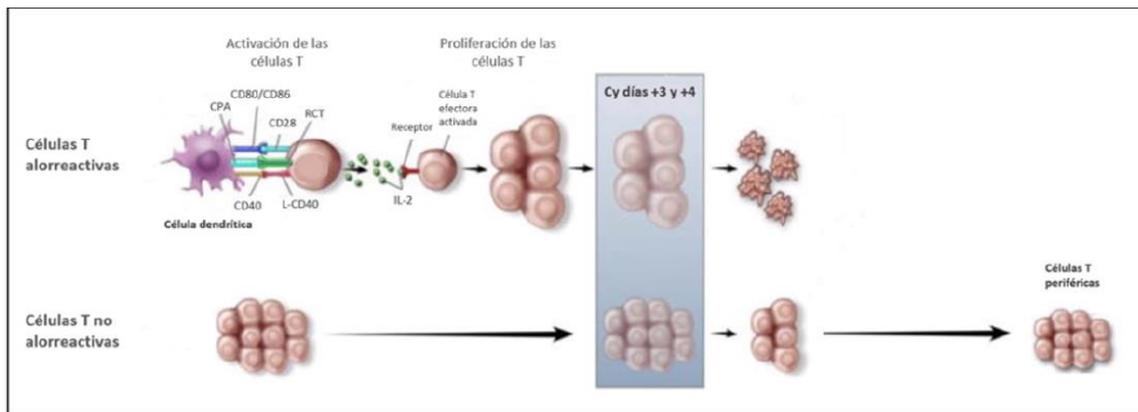


Figura: Mecanismo de inmunotolerancia producida por las altas dosis de la CyPT.

Fuente: Luznik et al, Semin Oncol. 2012.

El uso inicial de la CyPT fue en combinación con otros inmunosupresores, como ICN o MFm, en el contexto del haplo-TPH⁵⁶. A partir de 2010, los esfuerzos se centraron en analizar su papel como profilaxis en trasplantes de DEi o DNEi⁵⁷⁻⁶², y posteriormente en DNEm⁶³, demostrando eficacia y seguridad en la reducción de la incidencia de la EICR aguda y crónica grave, así como de la MRT, sin aumentar la tasa de recaídas en comparación con la profilaxis clásica de EICR en ensayos clínicos fase III⁶⁴. Por consiguiente, se está ampliando su uso como profilaxis de la EICR fuera del entorno haploidéntico, tanto en hemopatías malignas como en no malignas^{65,66}, en todo tipo de acondicionamientos y fuentes de PH.

Respecto a las futuras líneas de investigación, surge el interrogante sobre la posibilidad de reducir la dosis total de CyPT en función de las comorbilidades y/o cardiopatía⁶⁷⁻⁶⁹ de los pacientes, con el fin de disminuir las toxicidades dosis dependientes, tales como la cardiotoxicidad, cistitis hemorrágica, infecciones, retraso en la reconstitución inmune, y disfunción del implante⁷⁰⁻⁷².

Se han explorado nuevos fármacos como abatacept, una proteína soluble de fusión recombinante del dominio extracelular del CTLA-4, y de la porción Fc de la inmunoglobulina G1, que compite con CD28 en las células T para unirse específicamente a CD80 y CD86 en las CPA, atenuando la activación de células T y por tanto la citotoxicidad celular. Este fármaco ha demostrado resultados prometedores en el ensayo clínico prospectivo fase II, NCT01743131, que incluyó 148 alo-TPH de DNEi y 46 de DNEm. Los pacientes que recibieron abatacept (dosis de 10 mg/kg endovenoso, los días

-1, + 5, +14, y +28) combinado con un ICN y MTX, presentaron una reducción significativa de la incidencia de la EICRa, sin aumentar el riesgo de recaída, y una reducción significativa de la MRT en el grupo de DNEm, en comparación con el grupo control que recibió un ICN y MTX. A su vez, el análisis de citometría de flujo realizado proporcionó pruebas convincentes de la restricción sustancial de la expansión de células T CD4+ efectoras, y de la preservación de las células T CD4+ *naive*, en el grupo de pacientes que recibieron abatacept. Estos resultados llevaron a su aprobación por la FDA en diciembre de 2021 como profilaxis de la EICR en este escenario^{73,74}.

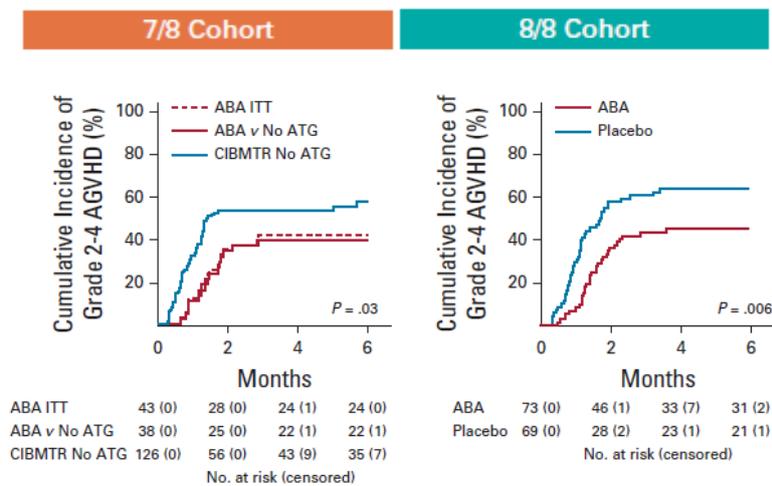


Figura: Comparación de la incidencia acumulada de la EICRa entre el grupo de abatacept+ICN+MTX vs. el grupo de control (ICN+MTX) en receptores de DNEm (7/8) y/o DNEi (8/8).

Fuente: Watkins B et al; J Clin Oncol. 2021.

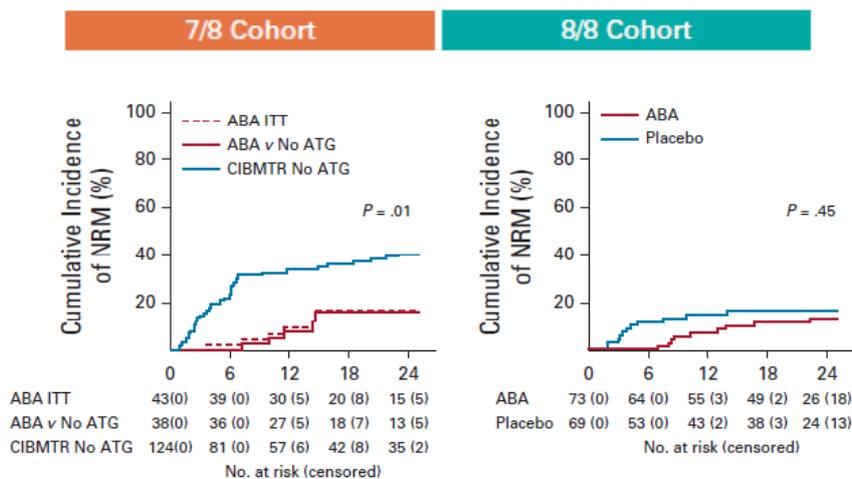


Figura: Comparación de la MRT entre el grupo de abatacept+ICN+MTX vs. el grupo de control (ICN+MTX) en receptores de DNEm (7/8) y/o DNEi (8/8).

Fuente: Watkins B et al; J Clin Oncol. 2021.

Recientemente se han publicado los resultados de un ensayo clínico prospectivo unicéntrico fase Ib-II, NCT04503616, en el que se explora la combinación de CyPT (50 mg/kg, los días +3 y+4) con abatacept (10 mg/kg endovenoso, los días + 5, +14, y +28) y un curso corto de tacrolimus (hasta el día +90, si ausencia de EICR), en 46 haplo-TPH de sangre periférica como fuente de PH, con resultados prometedores en la reducción de la EICRa II-IV, y un perfil de toxicidad aceptable⁷⁵. No obstante, se requieren estudios aleatorizados para confirmar estos hallazgos.

1.3.3 Evolución de las estrategias de prevención en nuestro centro

Desde mediados de los años 80, la profilaxis convencional de la EICR en nuestro centro ha consistido en CsA en combinación con MTX. A finales de los 90, a raíz de los buenos resultados de la combinación de tacrolimus y MTX, le posicionaron como el ICN estándar.

En 2004 decidimos reemplazar la combinación clásica CsA-MTX por CsA-MFM en alo-TIR, debido a los beneficios observados en términos de mayor velocidad en la adquisición del injerto hematopoyético y una menor severidad de la mucositis en el grupo con MFM^{42,43}.

En 2009, introducimos la combinación sirolimus y tacrolimus en receptores de un alo-TIR de DNE, debido a la mejora observadas en la incidencia de EICRc y SG^{44,76,77}. Dado los buenos resultados obtenidos, ampliamos su uso a todos los alo-TIR independientemente del tipo de donante.

Ese mismo año, incorporamos la ATG (Thymoglobulin®, 2 mg/kg día los días -3, -2, y -1, dosis total 6 mg/kg) a la profilaxis convencional, en el caso de DNE con un alelo único no coincidente, teniendo en cuenta la tipificación HLA de alta resolución de los loci A, B, C, DRB1 y DQB1.

En mayo de 2013, implementamos el haplo-TPH con CyPT (50 mg/kg/día los días +3 y +4) y tacrolimus en infusión continua de 24 horas desde el día +5.

Seguidamente en enero de 2016, diseñamos un protocolo prospectivo unicéntrico para incorporar la CyPT fuera del entorno haplo-TPH de manera secuencial. Inicialmente, se incluyeron los alo-TIR de DEi, DNE y/o DNEm con alto riesgo de desarrollo de la EICR (diferencia HLA o donante mujer y paciente varón). En el análisis intermedio se observó

un 21% de fallo de injerto, por lo que se decidió añadir dosis bajas de tiotepa (3 mg/kg del -7 al -6) a la combinación fludarabina-busulfán (fludarabina 30 mg/m² del -5 a -2 y busulfán 3,2 mg/kg/día del -4 al -3) o fludarabina-melfalán, en caso de no disponer de la realización de niveles de busulfán.

Posteriormente en marzo de 2018, tras las modificaciones realizadas en el protocolo, se incluyeron los alo-TPH de pacientes con síndromes linfoproliferativos, y los alo-TPH acondicionados con regímenes mieloablativos basados en ICT

Finalmente, en caso de pacientes frágiles con comorbilidades, cardiopatía previa, MF, o escasa celularidad de PH infundida, individualizamos la profilaxis de la EICR, bajando la dosis total de la CyPT de 50 mg/kg/día a 30 mg/kg/día los días +3 y +4 postrasplante.

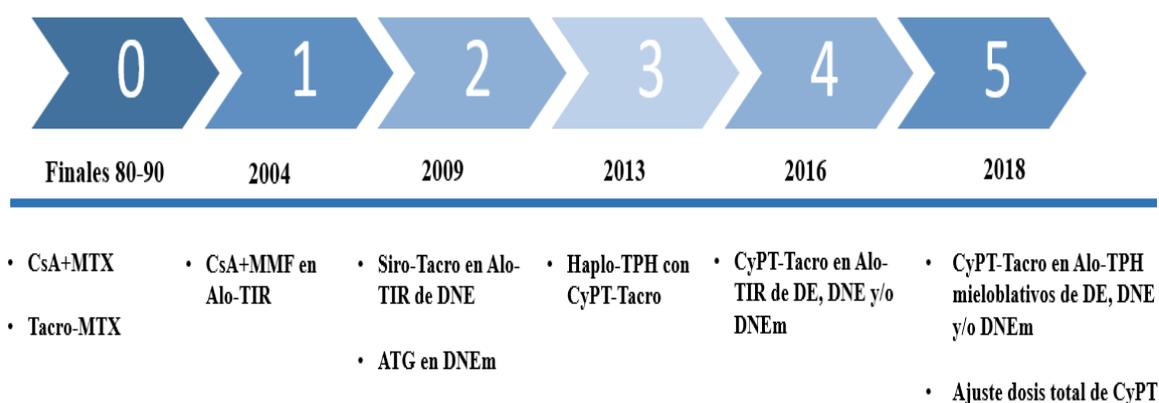


Figura: Cronología de las estrategias de profilaxis de la EICR en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

1.3.4 Tratamiento de la EICR

A pesar del uso rutinario de profilaxis con agentes inmunosupresores u otras estrategias de manipulación del inóculo, descritas en apartados anteriores, entre el 30-60% de los receptores de alo-TPH desarrollarán EICRa, y entre el 20-85% EICRc en los primeros meses post-TPH.

Teniendo en cuenta la fisiopatología de la EICR, el tratamiento se centra en modular los linfocitos T aloreactivos. No obstante, también se han identificado otras poblaciones celulares de interés contra las que dirigir el tratamiento, como los linfocitos T reguladores, las células dendríticas, los linfocitos NK, y los linfocitos B. Estos hallazgos abren nuevas

posibilidades terapéuticas y sugieren enfoques más amplios para abordar la complejidad de la EICR⁷⁸.

1.3.5 Antecedentes y estrategia actual en la EICRa

La decisión de iniciar tratamiento sistémico depende no solamente de la severidad de las manifestaciones clínicas sino también de la velocidad de progresión, siendo altamente recomendable la confirmación histológica.

En caso de la EICRa cutánea y/o digestiva grado I se utiliza tratamiento con corticoides tópicos no absorbibles. La progresión rápida a un grado II-IV requiere de la introducción de corticoides sistémicos sin demora, manteniendo en la mayoría de los casos el tratamiento profiláctico que el paciente estaba recibiendo tras realizar la optimización de los niveles⁷⁹.

En la EICRa grado IIa con afectación aislada de piel o gastrointestinal alta se utilizan esteroides a dosis de 1 mg/kg, y en EICRa grado IIb-IV se utiliza dosis de 2 mg/kg. Hasta la fecha no se ha demostrado beneficio alguno con el uso de dosis mayores de esteroides⁸⁰, ni con la adición de un segundo inmunosupresor como el MFM, o itacitinib (inhibidor selectivo de JAK1)^{81,82}, por lo que los esteroides en monoterapia siguen considerándose el tratamiento de primera línea.

Con el objetivo de reducir la dosis de corticoides sistémicos y por tanto minimizar el efecto deletéreo de estos, es de real importancia la asociación de esteroides no absorbibles como la budesonida (9 mg/día) y /o la beclometasona (1-2 mg, cuatro veces al día) en el tratamiento de la EICRa GI⁸³.

Entre los retos futuros, se encuentra la individualización del tratamiento inicial de primera línea en función del índice clínico de gravedad de Minnesota²⁹, y de los biomarcadores plasmáticos³⁰⁻³¹. El objetivo es identificar de manera precoz a los pacientes de bajo riesgo de EICRa para reducir la toxicidad del tratamiento esteroideo⁸⁴, y a los pacientes de alto riesgo para que puedan beneficiarse de ensayos clínicos, dada la baja respuesta al tratamiento convencional de primera línea y la alta MRT asociada.

Se debe de evaluar la respuesta al tratamiento de primera línea con esteroides los días +3, +5, y +7 tras el inicio de tratamiento para identificar precozmente los pacientes no respondedores. Posteriormente, se recomienda la realización de una reevaluación de la

respuesta al tratamiento semanal durante las primeras 8 semanas hasta la suspensión del tratamiento^{33,85}. Se debe tener en cuenta que la respuesta global (RC+RP) alcanzada en el día +28 del tratamiento de primera línea con corticoides se ha asociado en multitud de estudios con la MRT y con la SG. Por esta razón, ha sido el objetivo principal para evaluar en la mayoría de los ensayos clínicos. Sin embargo, la evaluación clínica a los 28 días del tratamiento tiene desventajas a la hora de detectar a los lentos respondedores, por lo tanto, se está considerando la evaluación de la respuesta al tratamiento a 2 semanas combinando la respuesta clínica junto al MAP score, que incluye biomarcadores²⁹.

Respuesta a esteroides	Definición
Refractariedad	Progresión tras 3-5 días de prednisona ≥ 2 mg/kg/d Ausencia de RP a los 7 días Ausencia de RC o MBRP a los 14 días
Dependencia	Imposibilidad de bajar la prednisona a < 2 mg/kg/d Recurrencia durante el tapering Incapacidad de reducir la prednisona $< 0,5$ mg/kg/día durante 7 días
Intolerancia	Aparición de toxicidad no aceptable

Tabla: Criterios de refractariedad, dependencia o intolerancia a esteroides en la EICRa⁸⁵.

Hasta la fecha, no existe un consenso en cuanto a la duración del tratamiento inicial con dosis altas de corticoides. Según las guías de la EBMT, se recomienda mantener la dosis inicial de 1-2 mg/kg/d de metilprednisolona los primeros siete días, pudiendo ser sustituidos por esteroides orales si se toleran estos, y no se recomienda un descenso de estos hasta que los signos de EICRa hayan desaparecido. El descenso de dosis es lento y depende de la respuesta; en caso de RC, se puede reducir la dosis en escalones de un 10% de la inicial hasta alcanzar suspensión del corticoide en un periodo de cuatro semanas. En aquellos casos en los que la respuesta inicial a los esteroides haya sido más lenta, la duración del tratamiento con corticoides será mayor.

En términos generales, los pacientes con EICRa de riesgo estándar presentan respuestas globales a los 28 días de hasta un 74%, mientras que los de alto riesgo muestran una tasa de respuesta del 59%, esto implica que aproximadamente entre un 20 y un 50% de los pacientes precisarán tratamiento de rescate de segunda línea²⁹.

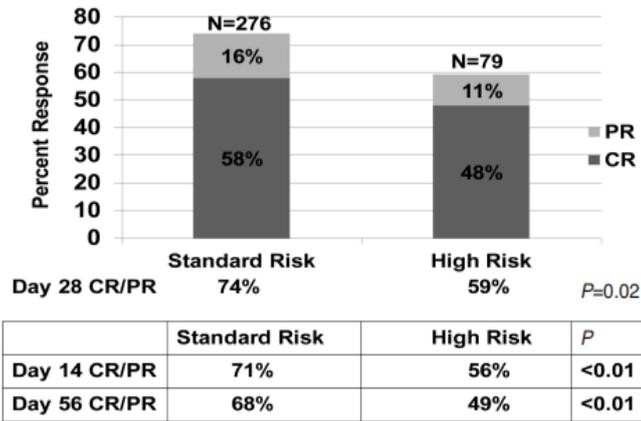


Figura: Respuesta a esteroides según el índice de gravedad Minnesota.

Fuente: MacMillan et al, Haematologica 2020.

Cabe destacar, que los pacientes con EICRa que no responden al tratamiento de primera línea con corticoides tienen un pronóstico muy desfavorable comparado con los respondedores, con SG del 46% vs. 88% a 2 años, debido a altas tasas de mortalidad relacionadas con infección y/o daño orgánico progresivo, y aumento de la incidencia acumulada de EICRc del 46% vs. al 29%^{86,87}. Por lo tanto, es fundamental la correcta evaluación de la respuesta desde un punto de vista pronóstico, para identificar aquellos pacientes no respondedores que se beneficiarán de un tratamiento de rescate precoz.

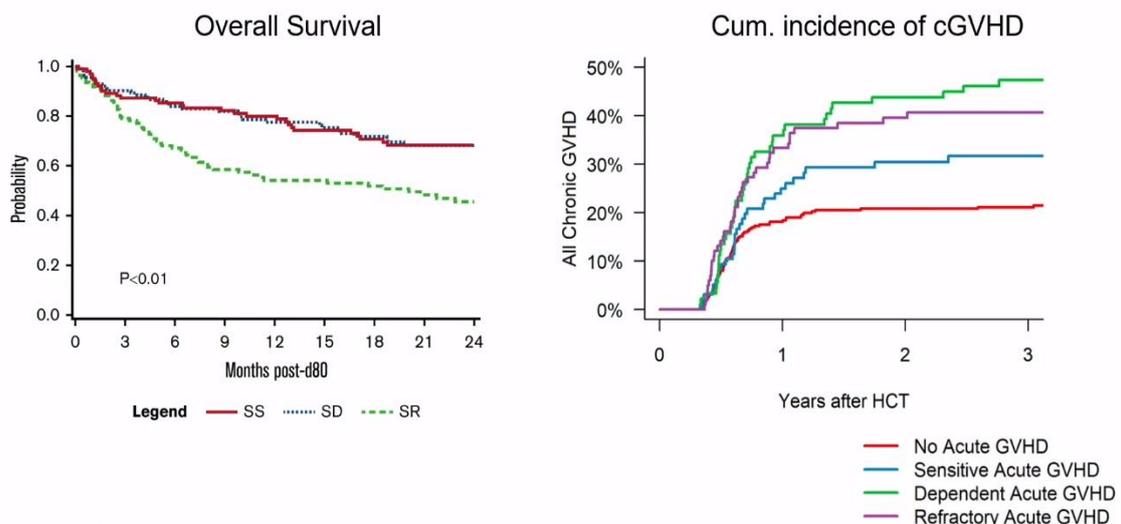


Figura: Supervivencia global en pacientes con EICRa en función de la respuesta a esteroides (SS=sensible; SD=dependiente; SR=refractario) y correlación con el desarrollo de EICRc.

Fuente: El Jurdi et al, Blood Adv. 2021; Herzog et al, Blood 2023.

A pesar de que se probaron múltiples fármacos para el tratamiento de la EICR refractaria y/o dependiente de esteroides, ninguno había demostrado su eficacia en ensayos prospectivos aleatorizados, por ese motivo todas las opciones disponibles eran válidas priorizando la inclusión en ensayos clínicos, lo que explica la falta de consenso previo sobre el tratamiento óptimo de segunda línea ⁸⁸⁻⁹⁰.

En 2015, se realizó un estudio retrospectivo multicéntrico en varios centros de trasplante en Europa y Estados Unidos, el cual estableció el potencial beneficio terapéutico del ruxolitinib, un inhibidor selectivo de JAK 1/2, en el tratamiento de la EICRa refractaria a esteroides⁹¹. Posteriormente, el ensayo prospectivo fase II, REACH-1, confirmó estos resultados mostrando respuestas globales de hasta el 54,9% y RC del 27% en 71 pacientes con EICRa refractaria⁹². El ensayo fase III, REACH-2, con 309 pacientes ratificó los hallazgos mostrando mejores respuestas globales a los 28 días de hasta el 62,3% en la rama de ruxolitinib vs. 39,4% en la rama control, que incluyó FEC 31%, inhibidores del TNF- α 24%, MFM 22%, ATG 16%, y células mesenquimales estromales 13%⁹³.

Además, se observaron respuestas de mayor duración respecto al grupo control a 56 días del 39,6% vs. 21,9%. Estos resultados respaldaron la aprobación del uso de ruxolitinib para tratar la EICRa refractaria en pacientes mayores de 12 años, por parte de la FDA en mayo de 2019, y por la EMA en mayo de 2022.

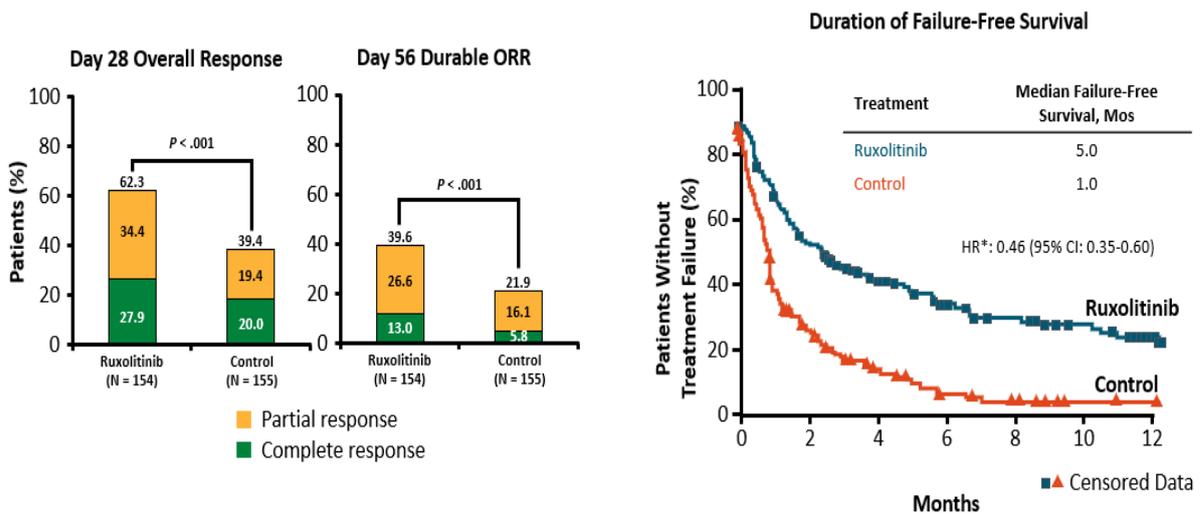


Figura: Respuesta global de ruxolitinib vs. control en pacientes con EICRa refractaria.

Fuente: Imagen adaptada de Zeiser et al, NEJM. 2020.

Es fundamental la correcta evaluación de la respuesta a ruxolitinib para identificar aquellos pacientes no respondedores que se beneficiarán de un tratamiento de rescate precoz, lo que ha llevado al desarrollo de criterios de respuesta específicos al fármaco⁹⁴.

Respuesta a Ruxolitinib	Definición
Refractariedad	Progresión tras 5-10 días desde el inicio Ausencia de RP a los 14 días Pérdida de respuesta en cualquier punto del tratamiento
Toxicidad	Aparición de toxicidad no aceptable

Tabla: Criterios de refractariedad, o intolerancia a ruxolitinib en EICRa refractaria⁹¹.

Actualmente, se están llevando a cabo estudios prospectivos de fase II para evaluar la combinación de ruxolitinib y esteroides como tratamiento de primera línea en pacientes con EICRa de alto riesgo (NCT04061876, NCT4397367)⁹⁵ con el objetivo de mejorar la eficacia en pacientes resistentes esteroides.

En estudios preclínicos, se ha observado que la presencia de citoquinas resistentes a esteroides, como la IL-22, con una función dual proinflamatoria y antiinflamatoria en el contexto del microambiente, puede predisponer al desarrollo de EICR en caso de disbiosis⁹⁶ o favorecer la reparación celular a nivel de la mucosa intestinal e inducir moléculas antimicrobianas innatas.

En un reciente estudio de fase II, se evaluó la combinación de IL-22 con corticoides en primera línea en pacientes con EICRa intestinal, y se obtuvo una respuesta global del 70%⁹⁷. Es importante destacar que el objetivo de esta combinación es potenciar la inmunosupresión con estrategias de recuperación de la mucosa, promoviendo la regeneración del microambiente previamente dañado. Es relevante mencionar, que los pacientes que respondieron mostraron una composición diferente de la microbiota, caracterizada por la expansión de anaerobios comensales, lo que se correlacionó con un aumento de la diversidad del microambiente, y una mejora de la disbiosis asociada a la EICR.

Cada vez hay más evidencia que demuestra que el acondicionamiento, los antibióticos y el estado de desnutrición pueden predisponer a la desregulación del microambiente en el alo-TPH. Estos factores alteran la integridad de la barrera epitelial en el intestino, lo que

a su vez conduce a un desequilibrio en la composición de la microbiota, y por consiguiente de la homeostasis del sistema inmune. Como consecuencia, se produce la activación y proliferación de los linfocitos T, desencadenando una tormenta de citoquinas que ocasionan el daño orgánico asociado. Actualmente, se está investigando el papel de los probióticos y el trasplante de microbiota fecal como estrategias directas para transferir bacterias, productos bacterianos y metabolitos con el fin de restaurar el microambiente, el cual puede actuar como inmunomodulador, y resetear el sistema inmunitario, llevando a la remisión de los síntomas de la EICRa⁹⁸.

Entre los trabajos que se han llevado a cabo, se encuentra el estudio prospectivo de fase II, HERACLES, que evaluó la eficacia del trasplante fecal como tratamiento de segunda línea en 24 pacientes con EICRa gastrointestinal de grado III-IV refractaria a esteroides (NCT03359980), obteniendo un 38% de respuestas globales en el día +28, y una SG del 29% y del 25% a 6 y 12 meses respectivamente⁹⁹. Actualmente se encuentra en fase de reclutamiento el estudio prospectivo de fase III, ARES en pacientes con EICRa gastrointestinal refractario a esteroides y a ruxolitinib (NCT04769895).

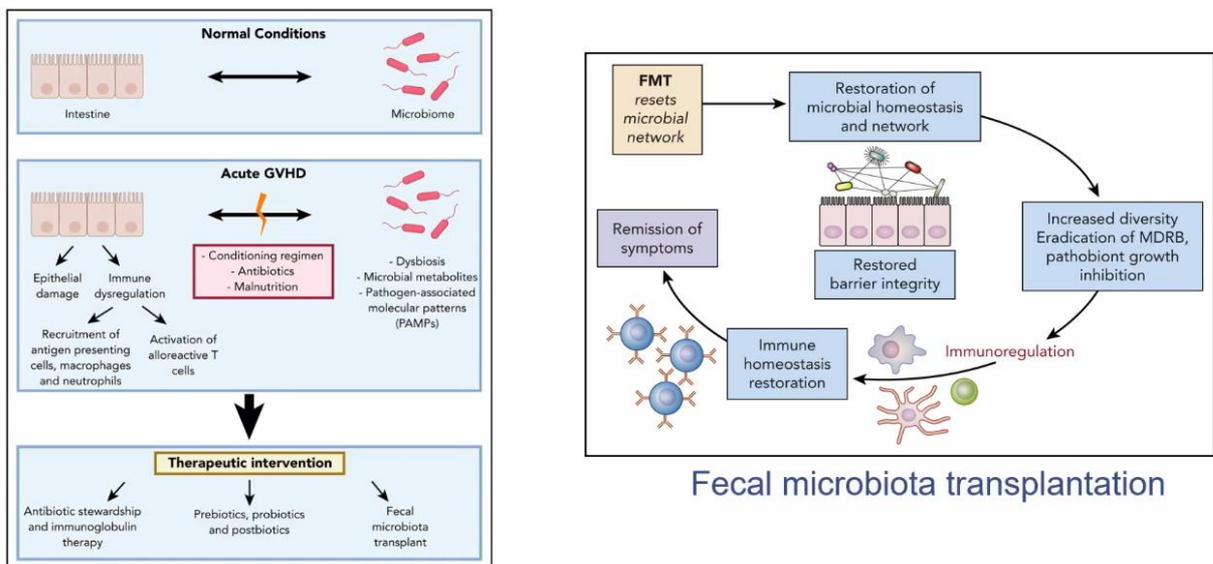


Figura: Desregulación de la microbiota y trasplante fecal como opción de tratamiento en la EICRa GI.

Fuente: Rafei et al, Blood. 2020.

1.3.6 Antecedentes y estrategia actual en la EICRc

Los tratamientos tópicos y cuidados de soporte son muy importantes en el manejo de la EICRc y pueden ser suficientes en el caso de formas leves. Mientras que en las formas de

moderadas o graves se debe iniciar tratamiento sistémico con esteroides a 1 mg/kg combinado con tratamiento tópico en las formas cutánea, digestiva o de mucosas (oral, ocular, genital), hasta alcanzar RC o MBRP, momento en el que se debe comenzar a disminuir la dosis de esteroides un 20-30% cada dos semanas hasta la retirada, teniendo en cuenta que en las últimas semanas el descenso debe ser más lento⁹⁰.

Los pacientes que están recibiendo otros inmunosupresores, se recomienda retirar el corticoide primero o bien reducir la dosis a la mínima imprescindible. Los otros inmunosupresores, normalmente los ICN, pueden ser retirados de forma progresiva a lo largo de 3 a 9 meses, con reducciones cada 2 a 4 semanas. La mediana de duración de la inmunosupresión puede llegar a ser de 2 a 3 años, lo que implica ciclos prolongados de tratamientos de ensayo y error, entrelazados con reagudizaciones de la EICRc en hasta un 60% de los casos, y toxicidad acumulada de los inmunosupresores^{100,101}.

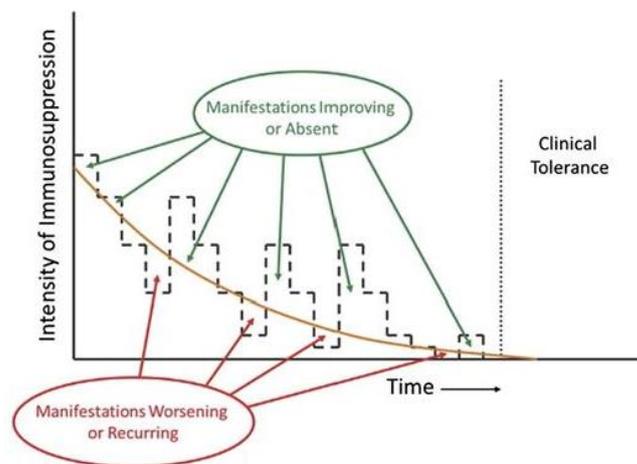


Figura: Ajuste del tratamiento en la EICRc.

Fuente: Rafei et al, Blood. 2020.

Diferentes ensayos aleatorizados han evaluado la asociación de esteroides con otros fármacos en primera línea como azatioprina, CsA, talidomida, MFM, sirolimus y recientemente ibrutinib, sin demostrar beneficio en pacientes con EICRc de nuevo diagnóstico¹⁰²⁻¹⁰⁴.

Se debe de evaluar la respuesta al tratamiento de primera línea con esteroides siguiendo los criterios de respuesta del NIH revisados en 2020^{33,34}, inicialmente a las dos y a las cuatro semanas del inicio de la terapia, posteriormente cada tres meses, y siempre que se realicen cambios importantes en el tratamiento. Los pacientes con formas graves de

EICRc, especialmente si están bajo tratamiento de rescate, pueden precisar un seguimiento más estrecho cada 2 o 4 semanas.

Respuesta a esteroides	Definición
Refractariedad	<ul style="list-style-type: none"> Progresión tras 1-2 semanas de prednisona 1 mg/kg/d EICRc estable tras prednisona 0,5 mg/kg/d durante 2 meses. Se puede extender a 3-6 meses en formas esclerodermiformes Imposibilidad de reducir la dosis <0,5 mg/kg/d Reactivación de los síntomas
Dependencia	Imposibilidad de bajar la prednisona a <0,25 mg/kg/d en 2 intentos separados por 8 semanas
Intolerancia	Aparición de toxicidad no aceptable

Tabla: Criterios de refractariedad, dependencia o intolerancia a esteroides en la EICRc⁸⁹.

Desafortunadamente, el 50% de los pacientes no responderán al tratamiento de primera línea por lo que recibirán una media de 3 líneas de tratamiento. Siendo la supervivencia libre de fracaso a la segunda línea de tratamiento (definida por la ausencia de tratamiento de tercera línea, de MRT, y de recurrencia de la neoplasia de base durante el tratamiento) del 56% a los 6 meses, del 45% a 12 meses y del 31% a 24 meses¹⁰⁵. Entre los factores predisponentes al fracaso, se encuentran la afectación GI y el EICRc severo según la clasificación del NIH. A los 5 años del diagnóstico, aproximadamente un tercio de los pacientes estará vivo y en remisión sin tratamiento inmunosupresor¹⁰⁶. Estos datos ilustran la importancia de la selección del tratamiento de rescate para la EICRc refractaria, y la necesidad de individualizarlo.

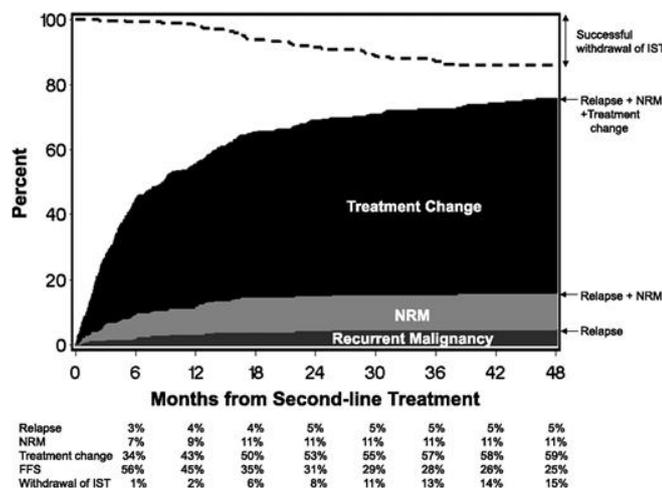


Figura: Supervivencia libre de fracaso a la segunda línea de tratamiento en pacientes con EICRc.

Fuente: Inamoto et al, Blood. 2013.

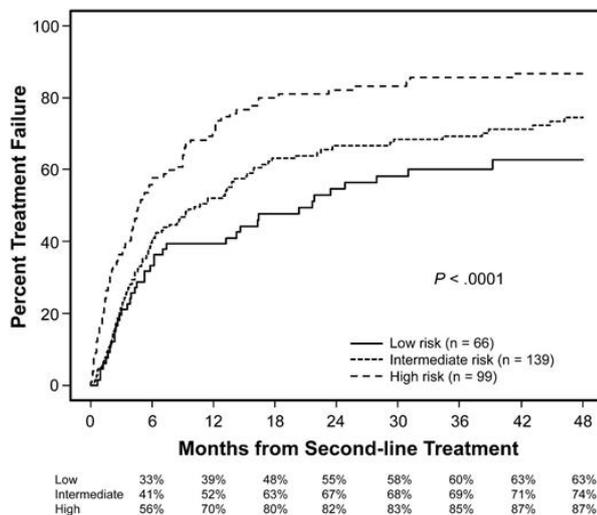


Figura: Incidencia de fracaso a la segunda línea de tratamiento en función del riesgo de EICRc.

Fuente: Inamoto et al, Blood. 2013.

Hasta hace poco tiempo, no existía consenso sobre el tratamiento de rescate en pacientes con EICRc refractaria y/o dependiente de esteroides. Solo disponíamos de publicaciones de grupos cooperativos que se basaban en opiniones de expertos y que incluían distintos enfoques terapéuticos como FEC, inhibidores de mTor, rituximab, imatinib, pentostatina, ICN o MFM¹⁰⁷. Sin embargo, la reciente aprobación de 3 fármacos de segunda línea por la FDA está modificando el panorama de tratamiento de la EICRc refractaria/dependiente de esteroides¹⁰⁸.

El ensayo fase II, NCT02195869, evaluó la eficacia de ibrutinib, inhibidor de BTK, a dosis 420 mg/día vía oral, en 42 pacientes con EICRc tras fracaso de 1 a 4 líneas previas. El 67% alcanzaron algún tipo de respuesta, con un 21% de RC a 14 meses, lo que permitió la reducción de la dosis de esteroides. El 31% de los pacientes requirió reducir la dosis debido a efectos adversos en su mayoría de grados I y II, siendo los más frecuentes fatiga, náuseas, diarrea y espasmos musculares. Se alcanzaron respuestas en todos los órganos, siendo especialmente eficaz en piel, boca y tubo digestivo. Estos resultados le dieron la aprobación por la FDA en agosto de 2017, en pacientes con EICRc refractaria a ≥ 1 línea de tratamiento¹⁰⁹.

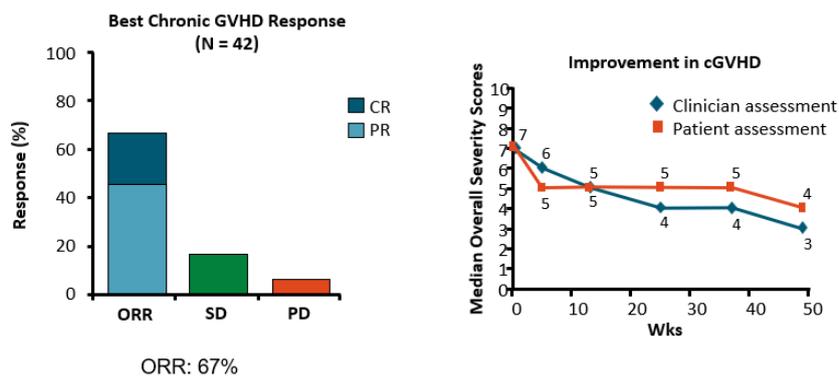


Figura: Respuesta a ibrutinib en pacientes con EICRc refractaria a ≥ 1 línea de tratamiento. (PD=progresión de la enfermedad; SD= enfermedad estable).

Fuente: Imagen adaptada de Miklos et al, Blood. 2017.

El ensayo fase II, ROCKstar, evaluó la eficacia de belumosudil a dosis de 200 mg cada 24 y cada 12 horas vía oral, un inhibidor selectivo de ROCK2 que regula la transcripción de genes profibróticos mediante la formación de colágeno por los fibroblastos y restaura la homeostasis inmunitaria al modificar el equilibrio entre células Th17 y los linfocitos T reguladores. El estudio se llevó a cabo en 132 pacientes con EICRc que habían recibido entre 1 a 5 líneas previas (incluyendo ibrutinib y ruxolitinib). Las respuestas globales fueron del 74% y del 77% respectivamente, con 5% de RC y 71% de RP a 12 meses, lo que permitió la reducción de esteroides en un 64% de los pacientes. Un tercio de los pacientes presentó efectos secundarios siendo los más frecuentes fatiga, diarrea y náuseas y un 12% requirió discontinuación. Estos resultados le dieron la aprobación por la FDA en julio de 2021, a la dosis de 200 mg cada 24 horas en pacientes mayores de 12 años con EICRc refractaria a ≥ 2 líneas de tratamiento¹¹⁰.

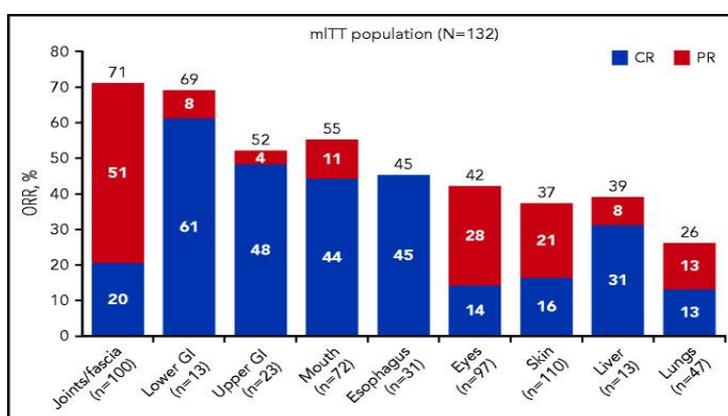


Figura: Respuesta por órganos a belumosudil en pacientes con EICRc refractaria a ≥ 1 línea de tratamiento.

Fuente: Cutler et al, Blood. 2021.

El ensayo fase III, REACH-3, que incluyó 329 pacientes con EICRc refractaria y/o dependiente de esteroides demostró por primera vez que ruxolitinib, a dosis de 10 mg cada 12 horas vía oral, en comparación con la rama control (FEC, MFM e ibrutinib) proporcionaba una mejor respuesta global a las 24 semanas del 49,7% vs 25,6%, y al final del seguimiento del 76,4% vs. 60,4%, permitiendo la reducción de los esteroides. Entre los pacientes que alcanzaron respuesta, la probabilidad estimada de mantenerla a los 12 meses fue del 68,5% en el grupo de ruxolitinib vs. 40,3 (en el grupo de control. Presentó una mejor supervivencia libre de fracaso de tratamiento de 18,6 meses vs. 5,7 meses en el grupo control, y un perfil de toxicidad aceptable siendo los efectos secundarios más frecuentes, la trombocitopenia (15%) y la anemia (12,7%)¹¹¹⁻¹¹³. Estos resultados le dieron la aprobación por la FDA en septiembre de 2021 y por la EMA en mayo 2022 para pacientes mayores de 12 años con EICRc refractario a 1 o 2 líneas de tratamiento.

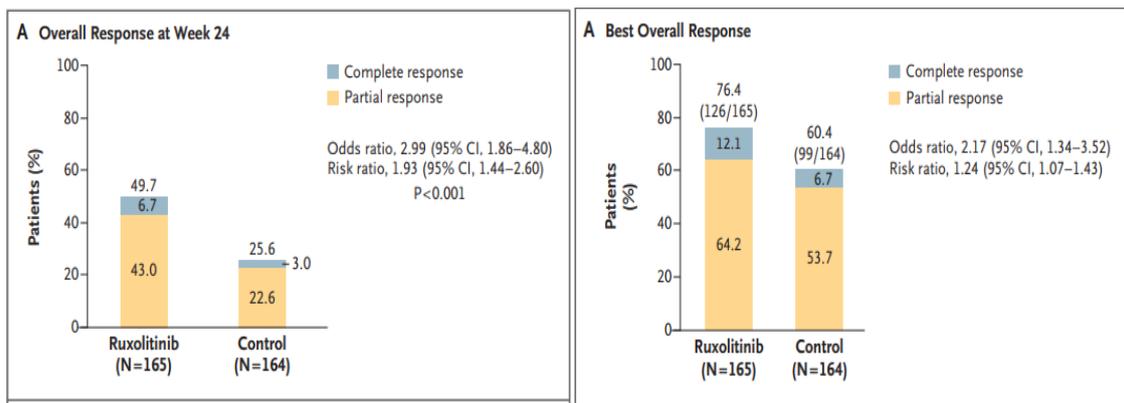


Figura: Respuesta global con ruxolitinib vs. control en la EICRc refractaria.

Fuente: Zeiser et al, NEJM. 2021.

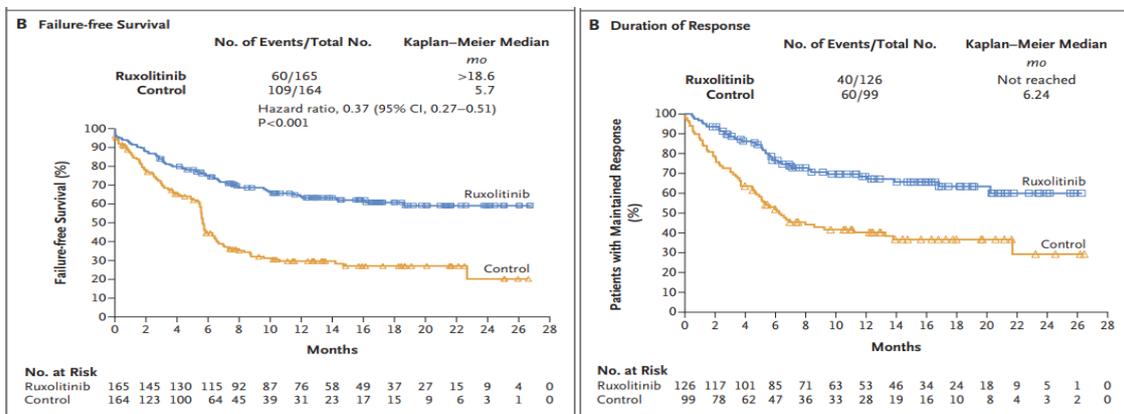


Figura: Supervivencia libre de fracaso y duración de la respuesta con ruxolitinib vs. control en la EICRc refractaria.

Fuente: Zeiser et al, NEJM. 2021.

A pesar de la aprobación de estos 3 fármacos en EICRc refractaria, la mayoría de las respuestas alcanzadas son parciales, siendo la tasa de RC menores a un 20 %. Además, siguen existiendo las formas mórbidas e incapacitantes, por lo que la interrupción sostenida de la terapia sistémica sigue siendo un reto difícil de alcanzar¹¹⁴.

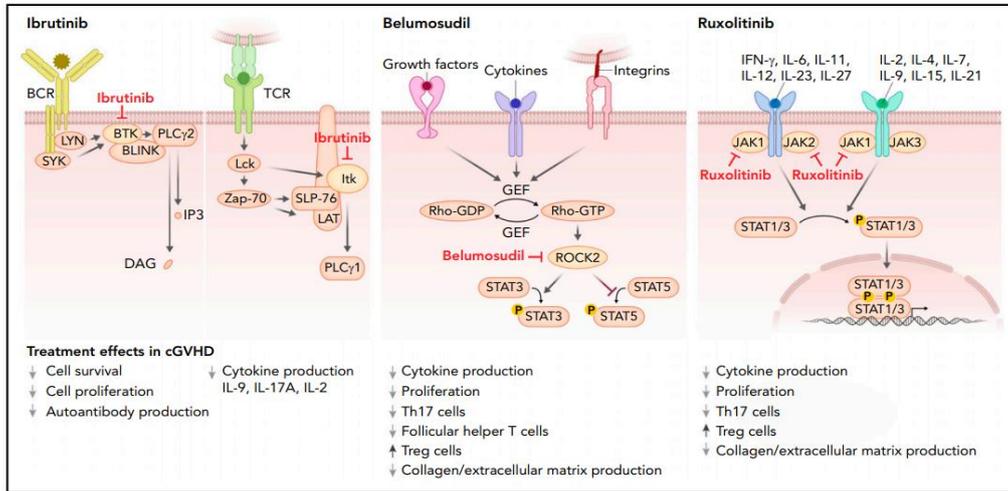


Figura: Mecanismo de acción de los fármacos aprobados por la FDA para la EICRc refractaria.

Fuente: Zeiser et al, Blood. 2022.

Es fundamental avanzar hacia enfoques personalizados y menos tóxicos en lugar de estrategias permanentes de "ensayo y error". Para lograr este objetivo, se necesitan biomarcadores predictivos como CXCL9, sBAFF y Reg3 α ¹¹⁵, no validados hasta la fecha en la práctica clínica, que indiquen de forma fiable si la EICR crónica está controlada para individualizar la reducción progresiva del tratamiento, y desarrollar nuevas terapias basadas en la biología de la EICRc que permitan intervenciones más inmunoselectivas¹¹⁶.

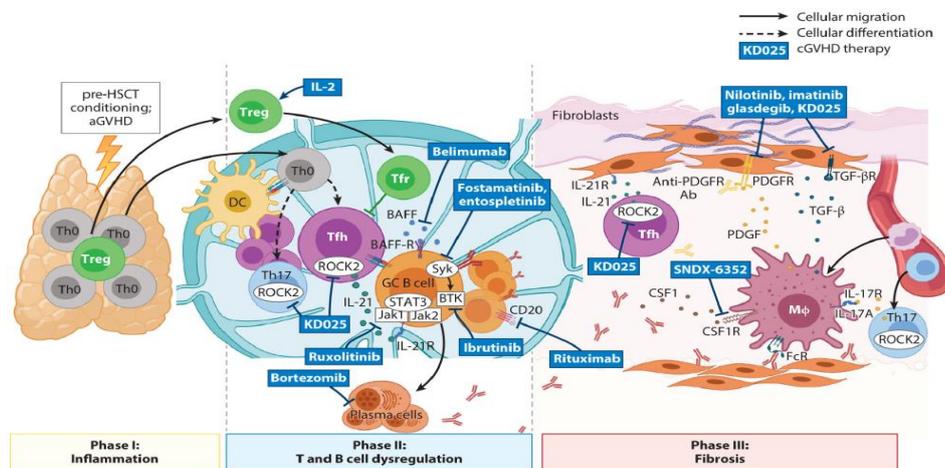


Figura: Patogénesis de la EICRc y dianas de tratamiento.

Fuente: Hill et al, Annu Rev Immunol. 2021

Recientemente, se han publicado los resultados del ensayo fase II, NCT01954979, con abatacept a dosis de 10mg/kg endovenoso (cada 15 días y posterior mensual, hasta un total de 6 dosis) en 39 pacientes con EICRc refractaria a esteroides que habían recibido entre 1 a 8 líneas previas (incluyendo ibrutinib y ruxolitinib). La tasa de respuesta global fue del 58%, siendo todas las respuestas parciales, lo cual permitió la reducción de esteroides tras un total de tres dosis del fármaco. Los órganos que alcanzaron una mayor respuesta fueron el pulmón (57%), hígado (54%), tracto gastrointestinal (50%) y boca (42%). El perfil de toxicidad fue aceptable, siendo los efectos secundarios más frecuentes la neutropenias, astenia y dolor de cabeza, con pocas complicaciones infecciosas graves. A su vez se observó una disminución de IL-1 α , IL-21, TNF- α y de la expresión de PD-1 por las células T CD4+, lo que demuestra el efecto inmunomodulador del fármaco en el microambiente inmunitario, convirtiéndole en una estrategia terapéutica innovadora y prometedora de cara al futuro en pacientes refractarios a las terapias aprobadas¹¹⁷.

1.3.7 Evolución de las estrategias de tratamiento en nuestro centro

En nuestro centro el tratamiento de primera línea para la EICR tanto aguda como crónica se basa en esteroides. Sin embargo, en caso de no obtener una respuesta inicial satisfactoria, la prioridad es la inclusión del paciente en ensayos clínicos específicos. En situaciones en las que no es posible la inclusión en ensayo, los pacientes reciben la opción de tratamiento contemplada en el protocolo institucional del centro, el cual se ha ido modificando a lo largo del tiempo.

Desde junio 1999 hasta enero de 2006, el tratamiento estándar de segunda línea para pacientes con EICRa refractaria a esteroides fue el inolimomab, un anti-interleukina-2, administrado por vía intravenosa a dosis de 11 mg/día durante 3 días, 5,5 mg/día durante 7 días y 5,5 mg a días alternos durante 5 días, dentro de un programa de uso compasivo institucional junto con CsA y/o MFM. La respuesta global alcanzada a 30 días en 92 pacientes tratados fue del 42%, con un 14% de RC, y un perfil de seguridad aceptable. La SG a 2 años fue de tan sólo un 18% (IC 95%, 10%- 26%) para toda la cohorte, y del 33% para los pacientes que respondieron en el día 30 (IC 95%, 25%-40%)¹¹⁸. Dado los modestos resultados en cuanto a la mejora de la SG entre los respondedores, se buscaron nuevas opciones de tratamiento.

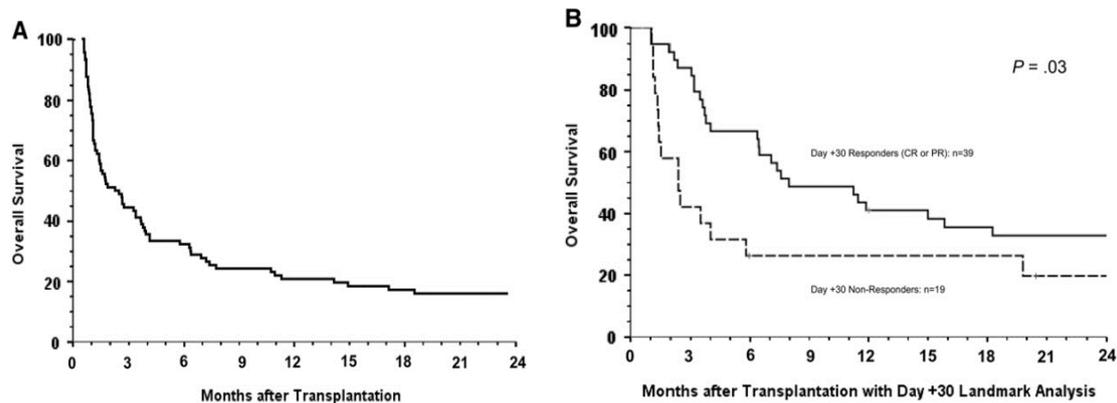


Figura: Supervivencia global de los pacientes con EICRa refractaria tratados con Inolimomab.

Fuente: García-Cadenas et al, Biol Blood Marrow Transplant. 2013

En noviembre de 2013, se estandarizó el uso de etanercept, inhibidor del TNF- α , como tratamiento de segunda línea para pacientes con EICRa refractaria a esteroides, a dosis de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana durante un periodo de 4 semanas y posteriormente 25 mg a la semana durante 4 semanas más. La respuesta global alcanzada a 28 días en 58 pacientes fue del 36%, con un 22% de RC. La SG a 1 año fue del 34% (IC 95%, 10%-26%) para toda la cohorte, siendo significativamente superior entre los respondedores 43%¹¹⁹.

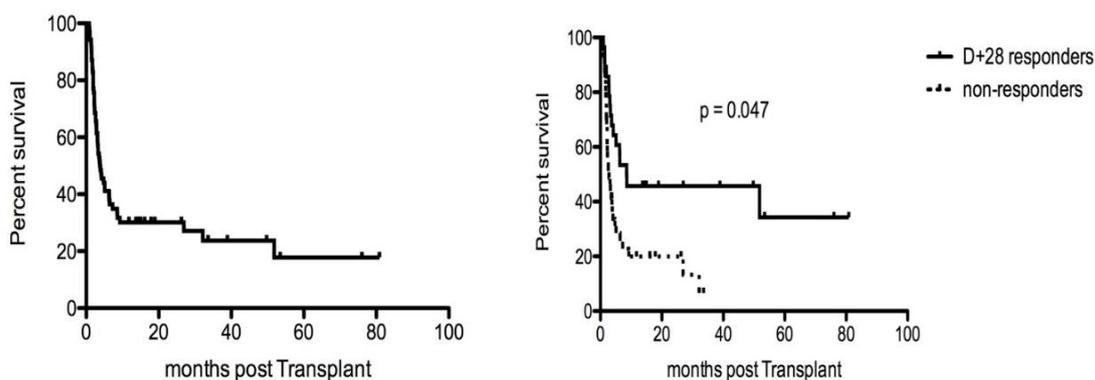


Figura: Supervivencia global de los pacientes con EICRa refractaria tratados con Etanercept.

Fuente: Ma CKK et al, Bone Marrow Transplant. 2018.

En octubre de 2014, se estableció el uso de la FEC como tratamiento de pacientes con EICRc cutánea moderada o grave refractaria a ≥ 1 línea de tratamiento. Posteriormente, a fecha diciembre 2020 se amplió el uso de FEC a formas de EICRc modera a grave

independientemente del órgano afecto en caso de cumplirse los criterios de córtico-resistencia o dependencia.

En abril de 2016, tras los resultados prometedores del estudio multicéntrico de Zeiser et al⁹¹, se estandarizó el uso compasivo de ruxolitinib dentro de un protocolo institucional como tratamiento de segunda línea para pacientes con EICR refractaria tanto aguda como crónica. Finalmente, en diciembre de 2020 tras los excelentes resultados de los ensayos clínicos REACH1 y REACH 2, se posicionó como el fármaco de elección de segunda línea en la EICR tanto aguda como crónica refractaria o dependiente de esteroides en nuestro centro.

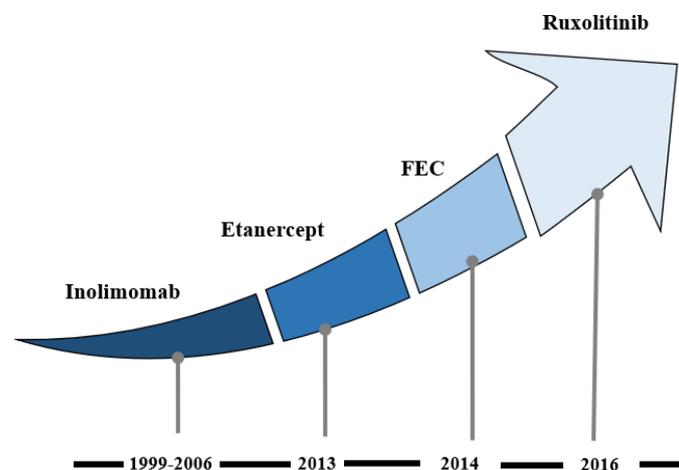


Figura: Tratamiento de segunda línea en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau para pacientes con EICR refractaria.

2 HIPÓTESIS

La introducción de la CyPT como profilaxis de la EICR ha supuesto un avance sin precedentes en la historia del alo-TPH, al reducir notablemente la incidencia de las formas moderadas y graves de la EICR, tanto aguda como crónica, independientemente del tipo de donante disponible. No obstante, la EICR continúa siendo la principal causa de morbimortalidad no relacionada con la recidiva, siendo fundamental la evaluación de estrategias adicionales para mejorar los resultados a largo plazo.

En esta línea, las hipótesis de la presente tesis fueron las siguientes:

1. La adaptación de la plataforma clásica de acondicionamiento mieloablativo Cy-ICT para pacientes con leucemia aguda y síndrome mielodisplásico de alto riesgo podría reducir la incidencia de la EICR sin aumentar la toxicidad precoz asociada al procedimiento mediante la incorporación de CyPT.
2. La reducción de la dosis total de CyPT en receptores de un alo-TPH de intensidad reducida con riesgo incrementado de fallo de injerto o toxicidad precoz, podría disminuir las complicaciones iniciales del procedimiento sin aumentar la incidencia de la EICR, ni de la recidiva.
3. El tratamiento de rescate con ruxolitinib en pacientes pluritratados con EICRc refractaria o dependiente de esteroides, es una opción eficaz y segura fuera de ensayo clínico.

3. OBJETIVOS

De acuerdo con las hipótesis planteadas, se propusieron los siguientes objetivos:

Objetivo principal

Evaluación del impacto de la modificación de las plataformas clásicas de acondicionamiento mieloablativo y de intensidad reducida, así como de la introducción de fármacos dirigidos a dianas terapéuticas, con el fin de optimizar la prevención y el tratamiento de la EICR grave.

Objetivos secundarios

1. Adaptar la plataforma estándar de acondicionamiento mieloablativo Cy-ICT mediante la incorporación de CyPT con el objetivo de mejorar la profilaxis de la EICR en pacientes con leucemia aguda y síndrome mielodisplásico de alto riesgo, sin aumentar la toxicidad precoz asociada al procedimiento.
2. Modificar la plataforma de acondicionamiento de intensidad reducida en pacientes con mielofibrosis, mediante la reducción de la dosis total de CyPT, con el objetivo de disminuir la toxicidad asociada con el procedimiento sin aumentar la incidencia de la EICR, ni de la recidiva.
3. Evaluar la eficacia y seguridad del tratamiento de rescate con ruxolitinib en pacientes pluritratados con EICRc refractaria o dependiente de esteroides fuera de ensayo clínico.

4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

Como resultado del trabajo de investigación que conforma esta tesis doctoral, se han publicado 3 artículos originales, dos de ellos se exponen a continuación, y el tercero se encuentra incluido en anexos.

4.1 Artículo 1:

García-Cadenas I, Redondo S, Esquirol A, Portos JM, Novelli S, Saavedra S, Moreno C, Garrido A, Oñate G, López J, Caballero AC, Miqueleiz S, Arguello-Tomas M, Briones J, Sierra J, Martino R. Successful Outcome in Patients with Myelofibrosis Undergoing Allogeneic Donor Hematopoietic Cell Transplantation Using Reduced Doses of Post-Transplantation Cyclophosphamide: Challenges and Review of the Literature. *Transplant Cell Ther.* 2023 Jul;29(7):473.e1-473.e6. doi: 10.1016/j.jtct.2023.04.008.



Allogeneic – Adult

Successful Outcome in Patients with Myelofibrosis Undergoing Allogeneic Donor Hematopoietic Cell Transplantation Using Reduced Doses of Post-Transplantation Cyclophosphamide: Challenges and Review of the Literature

Irene García-Cadenas[#], Sara Redondo^{*,#}, Albert Esquirol, J.M. Portos, Silvana Novelli, Silvana Saavedra, Carol Moreno, Ana Garrido, Guadalupe Oñate, Jordi López, Ana-Carolina Caballero, Sara Miqueleiz, Miguel Arguello-Tomas, Javier Briones, Jorge Sierra, Rodrigo Martino

Hematology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau and José Carreras Leukemia Research Institutes, Departamento de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

Article history:

Received 27 February 2023

Accepted 10 April 2023

Key words:

Myelofibrosis
Allogeneic hematopoietic cell
transplantation
Toxicity
GVHD
Post-transplant cyclophosphamide

A B S T R A C T

Engraftment and nonrelapse mortality (NRM) after allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) depend greatly on the transplantation platform in patients with myelofibrosis (MF). We report outcomes of 14 consecutive MF patients who received reduced doses of post-transplantation cyclophosphamide (PTCy; 60 mg/kg total dose) and tacrolimus as graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis as part of a new standardized allo-HCT protocol. The median patient age at allo-HCT was 59 years (range, 41 to 67 years), and the median interval from diagnosis to HCT was 19 months (range, 2 to 114 months). All patients received ruxolitinib before HCT, and 71% had no response. Most patients (78%) had symptomatic splenomegaly at HCT. Eighty-six percent received reduced-intensity conditioning, and 64% underwent allo-HCT from an unrelated donor. There were no graft failures, and neutrophil and platelet recovery occurred at a median of 21 days and 31 days, respectively. The cumulative incidence of grade II-IV acute GVHD was 28.6%, and that of grade III-IV acute GVHD was 7%. The 2-year incidence of overall and moderate-severe chronic GVHD was 36% and 14%, respectively. Only 1 patient relapsed after transplantation, and NRM was 7% at 100 days and 14% at 2 years. The GVHD-free/relapse-free and immunosuppression-free incidence at 1 year was 41%. With a median follow-up for survivors of 28 months (range, 8 to 55 months), the 2-year overall survival and progression-free survival were 86% and 69%, respectively. Reduced doses of PTCy as GVHD prophylaxis for high-risk MF patients showed promising results by reducing the incidence of GVHD without any cases of graft failure.

© 2023 The American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

INTRODUCTION

Myelofibrosis (MF) is a BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasm with a heterogeneous clinical course ranging from an indolent disease evolving over decades to a disorder with severe cytopenia and a significant risk of leukemic progression, with reduced survival and compromised quality of life [1,2]. Although several treatment options, including Janus

kinase (JAK) inhibitors, have provided a clinical benefit, allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) remains the sole curative modality [3–6].

Importantly, nonrelapse mortality (NRM) is rather high in this setting, ranging from 13.5% to 43% at 1 year [7–11], which has historically limited its applicability to <10% of patients owing to advanced age and/or the presence of comorbidities. In addition, the pre-HCT and especially post-HCT management of MF patients remains complex, and graft failure as well as poor graft function remain significant problems, especially in those with severe splenomegaly at transplantation [1–3]. Furthermore, reported rates of moderate to severe graft-versus-host disease (GVHD) range from 29.7% to 40% in allo-HCT recipients [12,13], contributing to morbidity and impaired quality of life in long-term survivors.

Financial disclosure: See Acknowledgments on page XXX.

*Correspondence and reprint requests: Servei d'Hematologia Clínica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Carrer Mas Casanovas, 90, 08041 Barcelona, Spain

[#] These authors are joint first authors.

<https://doi.org/10.1016/j.jtct.2023.04.008>

2666-6367/© 2023 The American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Post-transplantation cyclophosphamide (PTCy) is a prophylactic strategy for GVHD initially introduced in the haploidentical HCT setting [14]. Several studies have shown that PTCy reduces the risk of chronic GVHD (cGVHD) compared with non-PTCy prophylaxis [15–17], although few studies have focused on MF patients [18–20].

PTCy at the standard dose of 50 mg/kg/day on days +3 and +4 certainly adds toxicity to any conditioning regimen, especially potential cardiac toxicity, hemorrhagic cystitis, and delayed hematopoietic reconstitution or even an increased risk of graft failure [21,22]. Patients with MF are usually elderly and are at high risk of delayed hematopoietic recovery and graft failure [3–7]. Thus, it seemed logical to test lower doses of PTCy in patients with MF, given the promising results of this regimen in previous studies of Fanconi anemia patients [23,24].

Although prior studies with reduced-dose PTCy focused mainly on haploidentical HCT after reduced-intensity conditioning (RIC) or myeloablative conditioning (MAC) regimens [25–28], in 2018 we introduced a new transplantation platform including reduced doses of PTCy and tacrolimus as GVHD prevention for patients with MF who underwent allo-HCT from a matched sibling donor (MSD) or matched unrelated donor (MUD).

This report describes preliminary data of 14 patients with high-risk MF who underwent allo-HCT using this strategy. We focused on events of particular interest, including early post-HCT toxicity, engraftment, and GVHD.

METHODS

Study Population

Between March 2018 and April 2022, 14 consecutive adult patients with poor-prognosis MF underwent allo-HCT including reduced-dose PTCy (60 mg/kg total dose) in combination with a single immunosuppressive drug as GVHD prophylaxis at the Division of Clinical Hematology of a tertiary university hospital. Clinical and laboratory data were collected retrospectively from medical records. Patients and donors provided written informed consent for the use of their data for clinical research.

Conditioning Regimens and Supportive Care

The RIC regimen for this study comprised low-dose thiotepa (3 mg/kg on day -6), followed by fludarabine 30 mg/m² administered i.v. on days -5 to -2 (total dose 120 mg/m²) and busulfan 3.2 mg/kg/day on days -4 and -3 (mTioFluBu). Phenytoin was given as anticonvulsant prophylaxis, and the busulfan dose was adjusted pharmacokinetically to ensure a C_{ss} of 800 to 1000 ng/mL for a daily exposure of 3600 to 5600 μ Mol-min. (The busulfan C_{ss} is the ratio of its area under the receiver operating characteristic curve over the 6-hour interval between doses, as described previously [18].) A second RIC platform, including the same doses of thiotepa and fludarabine followed by melphalan 100 mg/m² i.v. on day -2 (mTioFluMel), was used if busulfan monitoring was not available. In addition, a well-known FluBu-4 myeloablative conditioning (MAC) regimen derived from the BuCy regimen was used in selected young patients without comorbidities [13].

Unmodified hematopoietic progenitor cells were obtained from 9/10 or 10/10 MSDs or MUDs using peripheral blood stem cells (PBSCs) and infused on day 0 (target CD34⁺ cell dose, 5 \times 10⁶/kg). One patient received bone marrow from an MUD. All patients received PTCy at the reduced dose of 30 mg/kg i.v. once daily on days +3 and +4, followed by tacrolimus (.03 mg/kg as a 24-hour i.v. infusion or orally to maintain

a target serum level of 8 ng/mL; range, 5 to 15 ng/mL) starting on day +5 and continuing to day +180 in the absence of GVHD. Post-transplantation growth factors were not routinely administered.

Antibacterial prophylaxis with fluoroquinolones was started at the initiation of the conditioning regimen (except in the presence of prior infections by fluoroquinolone-resistant bacteria) and continued until neutrophil recovery or the start of empirical/targeted antibiotic treatment. Antiviral prophylaxis consisted of low-dose acyclovir (400 mg i.v. twice daily or equivalent oral dose). Antifungal prophylaxis with fluconazole was started at the initiation of the conditioning regimen and continued until hematopoietic recovery, unless secondary prophylaxis for prior aspergillosis was indicated. Broad-spectrum antifungal prophylaxis was recommended in patients requiring high-dose steroids for GVHD. Cotrimoxazole or pentamidine prophylaxis was administered until the CD4⁺ T cell count exceeded 200/mm³ for 6 consecutive months and immunosuppressive drugs had been discontinued. Serum galactomannan level was measured twice-weekly in patients not receiving anti-aspergillus pharmacoprophylaxis. Serial blood monitoring by quantitative PCR for cytomegalovirus (CMV) was initially performed twice weekly until at least day +100 post-HCT and treated preemptively with ganciclovir or foscarnet, whereas Epstein-Barr virus monitoring was not performed [29].

Chimerism Analysis

After transplantation, serial samples of unfractionated peripheral blood and bone marrow mononuclear cells were analyzed after hematologic recovery (days +21 to +60), on days +90 to +100, on days +180 to +200, and then every 3 months or in cases of persistent prior mixed chimerism, disease recurrence, or suspicion of graft failure, whereas chimerism of selected T cells and granulocytes in peripheral blood were analyzed until stable 100% donor chimerism was achieved, as described in detail previously [30].

Endpoint Definitions

The time to neutrophil recovery was defined as the first of 3 consecutive days on which the absolute neutrophil count (ANC) was $>.5 \times 10^9$ /L. Primary graft failure was defined as failure to achieve an ANC of $.5 \times 10^9$ /L by day +42, and secondary graft failure included loss of neutrophil engraftment as determined by an ANC $<500/\mu$ L for 3 consecutive days after having achieved neutrophil engraftment with documented donor cell chimerism and no evidence of disease progression in the marrow. The time to platelet recovery was defined as the first of 3 consecutive days on which the platelet count was $>20 \times 10^9$ /L without transfusions for 7 days before the first measurement. Acute GVHD (aGVHD) grading was defined and graded in accordance with the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium criteria [31], and the severity of cGVHD was evaluated according to the National Institutes of Health 2014 Consensus Criteria [32]. Severe infections were defined as any bacterial, viral, or invasive fungal infection requiring i.v. or leading to or prolonging a hospitalization, as were all CMV and Epstein-Barr virus infections [33]. Survival was defined as the time from HCT to death from any cause.

Statistical Analysis

Results were analyzed using SPSS version 26.0.01 (IBM, Armonk, NY), and cumulative incidence was estimated using R statistical software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). The probabilities of overall survival (OS) and

progression-free survival (PFS) were estimated using the Kaplan-Meier product-limit estimate, and univariate testing was done with the 2-sided log-rank test. The incidences of NRM and disease relapse and progression were calculated using cumulative incidence estimates, considering competing risks. Post-transplantation variables, such as aGVHD and cGVHD, were evaluated as time-dependent covariates. All outcomes were measured from the date of transplantation. Because of the small sample size, risk factor analyses for transplantation outcomes could not be carried out.

RESULTS

Study Population

A total of 14 adult patients with MF were consecutively included. Patient, disease, and transplantation characteristics are presented in Table 1. The median time from diagnosis to HCT was 19 months (range, 2 to 114 months). The cohort included 9 males (64%) and had a median age at HCT of 59 years (range, 41 to 67 years). Six patients had primary MF (43%), 6 had a *JAK2-V617F* mutation (43%), and 11 (79%) had a Dynamic International Prognostic Scoring System-Plus intermediate-2 or high risk. Most patients had palpable splenomegaly below the left costal margin ($n = 11$; 78.6%). Ten patients (71%) harbored an unfavorable mutation according to the MIPSS-70 (Mutation-Enhanced International Prognostic Scoring System for Transplantation-Age Patients With Primary Myelofibrosis) criteria. All patients had received ruxolitinib before transplantation, but only 4 (29%) had achieved a partial spleen response. There was only 1 case of transformation to acute leukemia. In patients on ruxolitinib, the dose was progressively tapered and then discontinued at the start of the conditioning regimen.

The donor type was MSD in 5 patients (36%), MUD in 6 (43%), and a single-allele mismatched MUD (mMUD) in 3 (21%). The median infused CD34⁺ cell dose was 5.5×10^6 /kg (range, .4 to 6×10^6 /kg). Eight patients (57%) had a European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) risk score ≥ 5 , and 50% had a Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index ≥ 2 .

Early Toxicity and Engraftment

All patients had successful donor engraftment, with ANC and platelet recovery occurring at a median of 21 days (range, 17 to 31 days) and 31 days (range, 11 to 249 days), respectively. The cumulative incidence of platelet engraftment at 100 days was 79% (95% confidence interval [CI], 57% to 100%). Severe mucositis (grade III-IV) occurred only in the 2 patients receiving a MAC regimen (14%). There were no cases of thrombotic microangiopathy, PTCy-related hemorrhagic cystitis, or veno-occlusive disease. No acute cardiac events were identified. At the last follow-up visit, 11 evaluable patients (78.6%) had complete donor chimerism.

Incidence and Severity of GVHD

The day +120 cumulative incidence of global, grade II-IV, and III-IV aGVHD was 50% (95% CI, 24% to 76%), 28.6% (95% CI, 5% to 52%), and 7% (95% CI, 0 to 21%), respectively (Fig. 1). Three of the 4 patients with grade II-IV aGVHD (75%) were steroid-dependent, and 2 responded to ruxolitinib. The remaining patient died on day +74 from idiopathic refractory ascites, which was putatively classified as grade IV hepatic aGVHD (7%).

The cumulative incidence of global cGVHD at 2 years was 36% (95% CI: 11- 61%). There were 2 cases of moderate-to-

Table 1
Patient Characteristics.

Characteristic	Value
Number of patients	14
Age, yr, median (range)	59 (41-67)
Male sex, n (%)	9 (64)
Underlying disease, n (%)	
Primary MF	6 (43)
Post-polycythemia vera MF	5 (36)
Post-essential thrombocythemia MF	3 (21)
Driver mutation, n (%)	
<i>JAK2-V617F</i>	6 (43)
<i>CALR</i>	4 (29)
<i>MPL</i>	1 (7)
Triple negative	3 (21)
ASXL1 mutation	8 (57)
Normal karyotype, n (%)	14 (100)
Symptomatic splenomegaly, n (%)	11 (78.6)
Transfusion dependency, n (%)	5 (36)
Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index ≥ 2 , n (%)	7 (50)
EBMT risk score ≥ 5 , n (%)	8 (57)
Dynamic International Prognostic Scoring System-Plus score, n (%)	
Intermediate-1	3 (21)
Intermediate-2	7 (50)
High	4 (29)
MIPSS-70+ version 2.0 score, n (%)	
Intermediate	4 (29)
High	10 (71)
Time from diagnosis to HCT, mo, median (range)	19 (2-114)
Ruxolitinib before HSCT, n (%)	14 (100)
Donor type, n (%)	
Related HLA identical	5 (36)
Unrelated identical	6 (43)
Unrelated mismatch	3 (21)
Female donor-male recipient, n (%)	4 (29)
Donor/recipient CMV serostatus -/-, n (%)	3 (21)
Peripheral blood as stem cell source, n (%)	13 (93)
CD34 ⁺ cell dose infused, $\times 10^6$ /kg, median (range)	5.5 (.4-6)
Type of conditioning, n (%)	
mTioFluBu	8 (57)
mTioFluMel	4 (29)
FluBu4	2 (14)
GVHD prophylaxis with PTCy plus tacrolimus, n (%) [*]	14 (100)

mTioFluBu: thiotepa 3 mg/kg on day -6, fludarabine 30 mg/m² on days -5 to -2, and busulfan 3.2 mg/kg/day on days -4 and -3; mTioFluMel: thiotepa 3 mg/kg on day -6, fludarabine 30 mg/m² on days -5 to -2, and melphalan 100 mg/m² on day -2; FluBu: 3.2 mg/kg/day i.v. or oral equivalent for 4 days.

^{*} PTCy at a reduced dose of 30 mg/kg i.v. once daily on days +3 and +4, followed by tacrolimus.

severe cGVHD for a 2-year incidence of 14% (95% CI: 1-33) (Fig. 1).

Severe Infections

Eleven out of 14 patients (78.6%) had a severe infection in the first year post-HCT, infectious episodes were bacterial in 64%, viral in 50%, and fungal in 14%. One patient (7%) developed late-onset BK virus-related hemorrhagic cystitis that resolved with supportive care. CMV infection

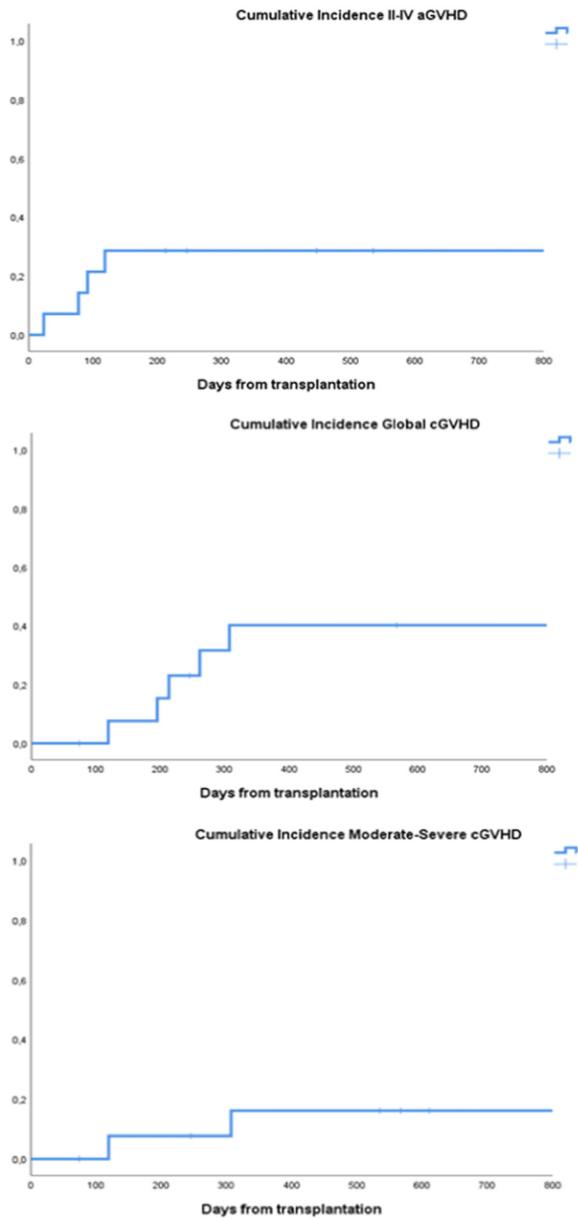


Figure 1. Cumulative incidence of grade II-IV aGVHD (A), global cGVHD (B), and moderate-severe cGVHD (C).

occurred in 4 patients (29%), with a median time from transplantation to infection of 89 days (range, 20 to 198 days). There were no cases of CMV disease and no infection-related deaths.

Main Transplantation Outcomes

At data cutoff in September 2022, the median follow-up for survivors was 28 months (range, 8 to 55 months). The 2-year probability of OS was 86% (95% CI, 67% to 100%) and that of PFS was 69% (95% CI, 34% to 96%), respectively (Fig. 2). One patient (7%) relapsed at 1 year postinfusion and underwent a second transplantation with

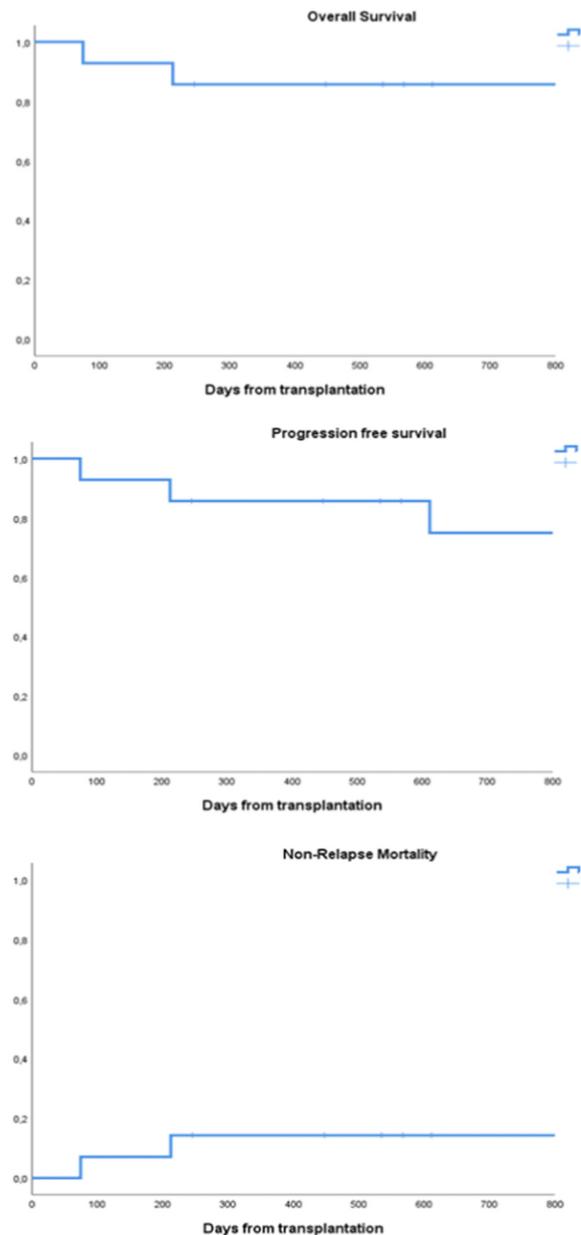


Figure 2. OS (A), PFS (B), and NRM (C).

the same protocol in November 2022 (currently alive and well at 3 months post-transplantation). Three out of 8 patients with a high EBMT risk score (≥ 5) died after transplantation, compared to none of the 6 with a lower score.

The incidence of NRM was 7% (95% CI: 1-21%) at 100 days and 14% (95% CI: 1-33%) at 12 months (Fig. 2). Causes of NRM included aGVHD in 1 patient (7%), cGVHD in 1 patient (7%), and secondary malignancy in 1 patient (7%). At 12-months post-transplantation, 5 out of 12 evaluable patients (41%) were GVHD-free/relapse-free and without systemic immunosuppression.

DISCUSSION

Allo-HCT remains the sole potentially curative treatment for MF [3–6]. However, even though early post-transplantation outcomes have improved over time [7–12], this treatment is still not provided to the vast majority of patients. With the ultimate aim of reducing the rates of early post-HCT toxicity, grade III-IV aGVHD, and severe cGVHD to <15% each and eliminating graft failure, we evaluated the impact of a new platform including reduced-dose PTCy on the safety, tolerability, and major outcomes of allo-HCT.

Numerous conditioning regimens have been used in patients with MF, and there likely is no best platform for all cases. A recent retrospective EBMT study published in 2019 [34] reported equivalent OS and NRM between recipients of RIC and MAC regimens. A more recent study showed that a conditioning strategy including the alkylating agents busulfan and thiotepa in combination with fludarabine significantly reduced the risk of relapse compared to regimens with 1 alkylating agent in combination with fludarabine [35]. Our new RIC platform for elderly and frail MF patients includes low-dose thiotepa in association with fludarabine and an alkylating agent (busulfan or melphalan), with the MAC protocol FluBu-4 used in the few young and fit patients.

Based on the promising results obtained with the use of standard-dose PTCy-based GVHD prophylaxis [36], we designed a new strategy for patients with MF consisting of reducing the PTCy dose from 50 to 30 mg/kg/day on days +3 and +4 (total dose 60 instead of 100 mg/kg), with the aim of reducing PTCy-related toxicity and the risk of graft failure. However, for safety reasons, our primary short-term objective was not increasing the risk of GVHD.

In our study, severe gastrointestinal toxicity occurred in the only 2 patients who received a MAC regimen. In addition, there were no cases of thrombotic microangiopathy, veno-occlusive disease, or transplantation-associated cardiac events, classical acute complications of PTCy [8–10].

Graft failure is also a frequent complication in allo-HCT recipients with MF, with a reported incidence ranging from 2% to 28% [9]. Interestingly, all patients in our series successfully engrafted with no cases of primary or secondary graft failure, even though most patients had symptomatic splenomegaly at allo-HCT (78.6%). In line with prior reports [35], slow neutrophil recovery (without G-CSF) and mainly prolonged thrombocytopenia post-transplantation were observed, and there was no evidence that reducing the PTCy dose had any impact on these delayed robust hematologic recoveries.

There have been few published studies in other settings [37–41] on the use of lower-dose PTCy in recipients of allo-HCT from MSD, MUD or mMUD (Supplementary Table S2). These studies combined lower-dose PTCy (20 to 40 mg/kg/day over 2 days) with PBSCs as the stem cell source, with low-dose antithymocyte globulin (ATG) in some studies, and cyclosporine A plus MMF post-PTCy. In a study focusing on recipients of mMUD allo-HCT with PTCy at 40 mg/kg/day for 2 days and without the use of ATG [36], the incidence of grade II-IV aGVHD was 15% and that of 1 year moderate-severe cGVHD was 5%, versus 50% and 18% in the non-PTCy historical cohort. In our study, the cumulative incidence of grade II-IV GVHD was low despite the use of single-agent tacrolimus with the reduced dose of PTCy. A similar finding was noted for cGVHD, with a low incidence of moderate and severe forms at 2 years, leading to a 1-year GVHD-free/relapse-free of 41%, an important surrogate indicator of improved quality of life in transplantation survivors [21–23]. Although outside the scope of the current study, we wish to emphasize that in the

haploidentical setting, lower-dose PTCy (25 mg/kg/day on days +3 and +4) appears to be warranted only with the use of bone marrow as the stem cell source [25], or with PBSCs at a dose of 25 to 40 mg/kg/day on days +3 and +4 in combination with low-dose ATG plus a calcineurin inhibitor, with or without mycophenolate mofetil [23,24].

The main limitation of our study is the small sample size, and we are well aware that these results will be considered anecdotal by many. With this caveat in mind, the promising results found in these difficult-to-transplant patients have led us to consider using PTCy at 30 mg/kg on days +3 and +4 in all recipients of a MSD, MUD or mMUD, while we will continue using the dose of 50 mg/kg/day on +3 and +4 in recipients of PBSC haploidentical HCT.

In summary, our single-center study shows promising outcomes with reduced doses of PTCy as GVHD prophylaxis in adult patients with MF who underwent allo-HCT with an MSD or MUD/mMUD. Of course, further studies are needed to confirm these results.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial disclosure: Supported by grants "La Marató de TV3" Foundation 2019 41-30; AGAUR 2017, SGR 1395, and 2021 SGR 01139 from the Catalan Government; a grant from "Obra Social La Caixa," Barcelona, Spain; PERIS SLT002/16/0043 from the Catalan Government; and FIS P117/01246, P120/01621, and RD16/0011/0028 from the Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad, Spain.

Conflict of interest statement: There are no conflicts of interest to report.

Authorship statement: I.G.-C. and S.R. designed the study, performed research, and wrote the manuscript. R.M. designed the study and supervised the project. All authors approved the final version of the manuscript. I.G.-C. and S.R. contributed equally to this work as co-first authors.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Supplementary material associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.jctc.2023.04.008.

REFERENCES

- Tefferi A, Cervantes F, Mesa R, et al. Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report. *Blood*. 2013;122:1395–1398.
- Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2023;98:801–821.
- Ballen KK, Shrestha S, Sobocinski KA, et al. Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16:358–367.
- Kanate AS, Majhail NS, Savani BN, et al. Indications for hematopoietic cell transplantation and immune effector cell therapy: guidelines from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020;26:1247–1256.
- Harrison CN, Schaap N, Mesa RA. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure. *Ann Hematol*. 2020;99:1177–1191.
- Ali H, Bacigalupo A. 2021 Update on allogeneic hematopoietic stem cell transplant for myelofibrosis: a review of current data and applications on risk stratification and management. *Am J Hematol*. 2021;96:1532–1538.
- Robin M, Porcher R, Wolschke C, et al. Outcome after transplantation according to reduced-intensity conditioning regimen in patients undergoing transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22:1206–1211.
- Salit RB, Scott BL, Stevens EA, Baker KK, Gooley TA, Deeg HJ. Pre-hematopoietic cell transplant ruxolitinib in patients with primary and secondary myelofibrosis. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55:70–76.
- Hernández-Boluda JC, Pereira A, Kröger N, et al. Determinants of survival in myelofibrosis patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leukemia*. 2021;35:215–224.
- Gowin K, Ballen K, Ahn KW, et al. Survival following allogeneic transplant in patients with myelofibrosis. *Blood Adv*. 2020;4:1965–1973.

11. Jaekel N, Behre G, Behning A, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis in patients pretreated with the JAK1 and JAK2 inhibitor ruxolitinib. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49:179–184.
12. Bewersdorf JP, Sheth AH, Vetsa S, et al. Outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelofibrosis—a systematic review and meta-analysis. *Transplant Cell Ther.* 2021;27:873.e1–873.e13.
13. Chhabra S, Narra RK, Wu R, et al. Fludarabine/busulfan conditioning-based allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis: role of ruxolitinib in improving survival outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26:893–901.
14. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:641–650.
15. Mielcarek M, Furlong T, O'Donnell PV, et al. Posttransplantation cyclophosphamide for prevention of graft-versus-host disease after HLA-matched mobilized blood cell transplantation. *Blood.* 2016;127:1502–1508.
16. McCurdy SR, Kasamon YL, Kanakry CG, et al. Comparable composite endpoints after HLA-matched and HLA-haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Haematologica.* 2017;102:391–400.
17. García-Cadenas I, Awol R, Esquirol A, et al. Incorporating posttransplant cyclophosphamide-based prophylaxis as standard-of-care outside the haploidentical setting: challenges and review of the literature. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55:1041–1049.
18. Kunte S, Rybicki L, Viswabandya A, et al. Allogeneic blood or marrow transplantation with haploidentical donor and post-transplantation cyclophosphamide in patients with myelofibrosis: a multicenter study. *Leukemia.* 2022;36:856–864.
19. Jain T, Tsai HL, DeZern AE, et al. Post-transplantation cyclophosphamide-based graft-versus-host disease prophylaxis with nonmyeloablative conditioning for blood or marrow transplantation for myelofibrosis. *Transplant Cell Ther.* 2022;28:259.e1–259.e11.
20. Hernández-Boluda JC, Pereira A, Alvarez-Larran A, et al. Survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelofibrosis: performance of the Myelofibrosis Transplant Scoring System (MTSS) and development of a new prognostic model. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26:2237–2244.
21. Yeh J, Whited L, Saliba RM, et al. Cardiac toxicity after matched allogeneic hematopoietic cell transplant in the posttransplant cyclophosphamide era. *Blood Adv.* 2021;5:5599–5607.
22. Watkins B, Williams KM. Controversies and expectations for the prevention of GVHD: a biological and clinical perspective. *Front Immunol.* 2022;13: 1057694.
23. Thakar MS, Bonfim C, Walters MC, et al. Dose-adapted post-transplant cyclophosphamide for HLA-haploidentical transplantation in Fanconi anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52:570–573.
24. Ayas M, Siddiqui K, Al-Jefri A, et al. Successful outcome in patients with Fanconi anemia undergoing T cell-replete mismatched related donor hematopoietic cell transplantation using reduced-dose cyclophosphamide post-transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25:2217–2221.
25. Sugita J, Kamimura T, Ishikawa T, et al. Reduced dose of posttransplant cyclophosphamide in HLA-haploidentical peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:596–604.
26. Zhang W, Gui R, Zu Y, et al. Reduced-dose post-transplant cyclophosphamide plus low-dose post-transplant anti-thymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis with fludarabine-busulfan-cytarabine conditioning in haploidentical peripheral blood stem cell transplantation: a multicentre, randomized controlled clinical trial. *Br J Haematol.* 2023;200:210–221.
27. McAdams MJ, Hyder M, Dimitrova D, et al. Phase I/II study of reduced dosing of post-transplantation cyclophosphamide (PTCy) after HLA-haploidentical bone marrow transplantation. *Blood.* 2021;138(suppl 1):101.
28. Duléry R, Goulet C, Mannina D, et al. Reduced post-transplant cyclophosphamide doses in haploidentical hematopoietic cell transplantation for elderly patients with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2023;58:386–392.
29. García-Cadenas I, Rivera I, Martino R, et al. Patterns of infection and infection-related mortality in patients with steroid-refractory acute graft versus host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52:107–113.
30. Valcárcel D, Martino R, Caballero D, et al. Chimerism analysis following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31:387–392.
31. Harris AC, Young R, Devine S, et al. International, multicenter standardization of acute graft-versus-host disease clinical data collection: a report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22:4–10.
32. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:389–401.e1.
33. García-Cadenas I, Albert E, Bosch-Vilaseca A, et al. Patterns of infection and infectious-related mortality in patients receiving post-transplant high dose cyclophosphamide as graft-versus-host-disease prophylaxis: impact of HLA donor matching. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:818–827.
34. McLornan D, Szydlo R, Koster L, et al. Myeloablative and reduced-intensity conditioned allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelofibrosis: a retrospective study by the Chronic Malignancies Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25:2167–2171.
35. Battipaglia G, Mauff K, Wendel L, et al. Thiotepa-busulfan-fludarabine (TBF) conditioning regimen in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis: an outcome analysis from the Chronic Malignancies Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:1593–1602.
36. DeFilipp Z, Burns LJ, Jaglowski SM, et al. A new standard in graft-versus-host disease prophylaxis? An introduction to Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network 1703. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26: e305–e308.
37. Soltermann Y, Heim D, Medinger M, et al. Reduced dose of post-transplantation cyclophosphamide compared to ATG for graft-versus-host disease prophylaxis in recipients of mismatched unrelated donor hematopoietic cell transplantation: a single-center study. *Ann Hematol.* 2019;98:1485–1493.
38. Sun X, Yang J, Cai Y, et al. Low-dose antithymocyte globulin plus low-dose posttransplant cyclophosphamide combined with cyclosporine and mycophenolate mofetil for prevention of graft-versus-host disease after HLA-matched unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:2423–2431.
39. Ackula H, Medawar G, Cerio C, Roberts TF, Meleveedu K. De-escalation of PTCy dosing in matched allogeneic transplants: a single institution retrospective study. *Blood.* 2021;138(suppl 1):4872.
40. Zu Y, Zhou J, Fu Y, et al. Feasibility of reduced-dose posttransplant cyclophosphamide and cotransplantation of peripheral blood stem cells and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for SAA. *Sci Rep.* 2021;11:253.
41. Zu Y, Gui R, Li Z, et al. Low-dose PTCy plus low-dose ATG as GVHD prophylaxis after UD-PBSCT for hematologic malignancies: a prospective, multicenter, randomized controlled trial. *Blood Cancer J.* 2023;13:10.

Table S2. Studies published to date (February 2023) on the use of lower dose PT-Cy (< 50 mg/kg x 2 days) in allo-SCT from MRD, MUD, or mMUD.

Study (year) [Ref.]	Study type	Donor type and stem cell source			Conditioning Platform(s) / GVHD prophylaxis	Graft Failure (%)	aGVHD Grade II-IV / III-IV	cGVHD overall / mod-sev	NRM	Comments
		MSD	MUD	mMUD						
Soltermann (2019) [37]	<ul style="list-style-type: none"> Retrospective single-center. Basel, Switzerland Adults only, any underlying disease 22 PTCy vs. 58 controls PTCy group 2016-2018 and control 2010-2017 	None	None	80(100%) PBSC in all but 1 study case	<ul style="list-style-type: none"> 35 (44%) RIC PTCy at 40 mg/kg +3 and +4, CsA + MMF in study group CNI+MTX/MMF+ATG 	None	<ul style="list-style-type: none"> II-IV: 15% PTCy vs. 50% control III-IV not specified 	<ul style="list-style-type: none"> Overall 1 yr.: 26% PTCy vs. 36% control Mod-sev 1 yr.: 5% PTCy vs. 18% control 	At 1 yr. 5% PTCy vs. 28% control	<ul style="list-style-type: none"> 1 yr. OS better in PTCy group (91% vs. 64%) No differences in engraftment nor infections Study supports using PTCy at 40 mg/kg in combination with CsA/MMF, PBSC, adults from mMUD (MSD/MUD)
Sun (2021) [38]	<ul style="list-style-type: none"> Retrospective single-center. Shanghai, China Young Adults only (median 36 y.o.), any underlying disease 51 patients 	None	22(43%)	29(57%) PBSC all	<ul style="list-style-type: none"> 11 (22%) RIC, 40 (78%) MAC PTCy at 50 mg/kg day +3 only, ATG, CsA & MMF 	1 (2%)	<ul style="list-style-type: none"> II-IV: 6% III-IV: None 	Overall 1 yr.: 12% No severe cGVHD	At 1 yr. 9%	<ul style="list-style-type: none"> 1 yr. OS 85% Study supports using PTCy at 50 mg/kg single dose, but with ATG, CsA and MMF, PBSC, young adults from MUD and mMUD (and MSD) Strategy uses lower-dose PTCy but in combination with ATG
Ackula (2021) [39]	<ul style="list-style-type: none"> Retrospective single-center. Providence, RI, USA Adults only, any underlying disease 10 PTCy at 2 dose levels. 	1(10%) PBSC	9(90%) PBSC all	None	<ul style="list-style-type: none"> 4 (40%) RIC, 6 (60%) MAC PTCy at 50 mg/kg +3 and +4 in 6 cases and 25 mg/kg +3 and +4 in 4 cases, CsA & MMF 	None	<ul style="list-style-type: none"> No cases of grade III-IV No further details 	0% cGVHD at a median of +6 months	0/4 with low dose PTCy vs. 2/6 high-dose PTCy	<ul style="list-style-type: none"> Anecdotal case reports presented in abstract form Authors plan to continue recruitment with low-dose PTCy Introduction of PTCy in their center improved 1-yr. OS (55% vs. 80%)
Zu (2021) [40]	<ul style="list-style-type: none"> Retrospective single-center. China Mostly Children Aplastic anemia only 13 PTCy vs. 20 controls 	All, PBSC plus MSC-CB	None	None	<ul style="list-style-type: none"> All RIC PTCy at 20 mg/kg +3 and +4, ATG, CsA + MMF in PTCy group (n=13) ATG, CNI+MTX/MMF in control group (n=20) 	None	<ul style="list-style-type: none"> II-IV: 8% PTCy vs. 30% control II-IV not specified 	Overall 1 yr.: 0% PTCy vs. 15% control group	At 1 yr. 0% PTCy group vs. 25%	<ul style="list-style-type: none"> Authors suggest that the use of low-dose PTCy with ATG, CsA and MMF leads to optimal outcomes in young patients with aplastic anemia using PBSC The small numbers and confusion of MSC-CB do not allow any firm conclusions.
Zu (2023) [41]	<ul style="list-style-type: none"> Multicenter, prospective randomized. Henan, China Young Adults (median 30 y.o.), any underlying disease 80 PTCy vs. 80 ATG group 	None	51% PTCy vs. 70% ATG group PBSC all	49% PTCy vs. 30% ATG group PBSC all	<ul style="list-style-type: none"> Hyperintensive non-TBI MAC in all PTCy at 20 mg/kg +3 and +4, ATG, CsA & MMF in PTCy group ATG+CsA+MTX+MMF in ATG group 	2 cases in each group (3%)	<ul style="list-style-type: none"> II-IV: 24% PTCy vs. 40% ATG group III-IV: 6% PTCy vs. 18% ATG group 	Overall 2 yr.: 15% PTCy vs. 27% ATG group Mod-sev 1 yr.: 4% PTCy vs. 12% ATG group	At 2 yr. 20% PTCy vs. 29% ATG group	<ul style="list-style-type: none"> 2 yr. OS better in PTCy group (78% vs. 68%) Study supports using PTCy at 20 mg/kg, but with ATG, CsA and MMF, PBSC, young adults from MUD and mMUD (and MSD) Strategy uses lower-dose PTCy but in combination with ATG

4.2 Artículo 2:

Redondo S, Esquirol A, Novelli S, Caballero AC, Garrido A, Oñate G, López J, Moreno C, Saavedra SD, Granell M, Briones J, Sierra J, Martino R, García-Cadenas I. Efficacy and Safety of Ruxolitinib in Steroid-Refractory/Dependent Chronic Graft-versus-Host Disease: Real-World Data and Challenges. *Transplant Cell Ther.* 2022 Jan;28(1):43.e1-43.e5. doi: 10.1016/j.jtct.2021.10.015.



Full Length Article

Allogeneic – Adult

Efficacy and Safety of Ruxolitinib in Steroid-Refractory/Dependent Chronic Graft-versus-Host Disease: Real-World Data and Challenges

Sara Redondo*, Albert Esquirol, Silvana Novelli, Ana Carolina Caballero, Ana Garrido, Guadalupe Oñate, Jordi López, Carol Moreno, Silvana-Daniela Saavedra, Miquel Granell, Javier Briones, Jorge Sierra, Rodrigo Martino, Irene García-Cadenas

Hematology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau and José Carreras Leukemia Research Institutes, Departamento de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain

**Article history:**

Received 8 September 2021

Accepted 24 October 2021

Key Words:

Steroid-refractory-chronic GVHD

Ruxolitinib

Steroids

GVHD-flare

Toxicity-profile

A B S T R A C T

Steroid-refractory (SR) chronic graft-versus-host disease (cGVHD) is a major obstacle in recipients of allogeneic stem cell transplantation (HCT). Ruxolitinib is the first agent to demonstrate superior efficacy to the best available therapy, but real-life data are still lacking. Here we describe the results of ruxolitinib compassionate use for the treatment of SR/steroid-dependent cGVHD in a tertiary care university hospital. In this retrospective single-center study, we evaluated the outcomes of 48 patients diagnosed with SR-cGVHD who were treated with ruxolitinib. Forty-seven (98%) had moderate-severe disease, and 27 (56%) had received ≥ 2 lines of prior therapy (excluding steroids). Results were analyzed using SPSS version 26.0.01 and R version 3.4.3. The overall response rate was 77% (37 of 48), with 15% (7 of 37) in complete remission. The median time to response was 2 months (range, 0.5 to 8 months). Steroid tapering was achieved in 26 patients (54%) and definitive discontinuation was achieved in 10 patients (21%) after a median of 20 months (range, 1.5 to 60 months). Toxicity was predominantly hematologic, including a 33% rate of anemia and a 17% rate of thrombocytopenia. Overall survival at 2 years was significantly higher in responders compared with nonresponders (88% [95% confidence interval (CI), 65% to 96%] versus 49% [95% CI, 12% to 78%]; $P = .01$). At last follow-up, tapering of ruxolitinib had been started in 8 of 37 responders (22%). Our experience supports the efficacy of ruxolitinib in the treatment of SR-cGVHD, along with its steroid-sparing effect and manageable toxicity. Gradual tapering of ruxolitinib seems feasible without cases of GVHD flare. More studies and longer follow-up are needed to confirm these data, as well as to identify the ideal dose adjustments in cases of toxicity.

© 2021 The American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

INTRODUCTION

Chronic graft-versus-host disease GVHD (cGVHD) is the most common long-term complication after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HCT) and has a substantial impact not only on survival, but also on the quality of life of HCT survivors [1]. Despite current standard prophylaxis, 25% to 80% of HCT recipients will develop cGVHD, and more than one-third of them will not to respond to first-line therapy, which still consists of systemic corticosteroids for all but those with limited skin/mucosal disease [2]. Although multiple agents had been tested in the treatment of cGVHD, none had proven efficacy in prospective randomized trials until the recent approval of ruxolitinib,

which explains the lack of consensus on the optimal second-line treatment for patients who are steroid-refractory, -dependent, or -intolerant [3–5].

In 2015, a multicenter retrospective survey in various European and US transplantation centers established the potential therapeutic benefit of ruxolitinib in the treatment of steroid-refractory GVHD (SR-GVHD) [6]. Subsequently, the prospective REACH-1 phase II trial showed responses in 54.9% of patients with acute forms of SR-GVHD who received ruxolitinib [7]. Based on these results, on May 2019, the Food and Drug Administration approved the use of ruxolitinib for SR acute GVHD (aGVHD) in patients age ≥ 12 years. A subsequent phase 3 trial confirmed previously reported findings showing a significantly stronger and more durable response of ruxolitinib with respect to investigator-selected best available treatment (BAT) in this setting [8]. Finally, recently published results of the REACH-3 phase III trial showed that compared with BAT, ruxolitinib provides superior overall response, failure-free

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 43.e5.

*Correspondence and reprint requests: Sara Redondo, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Mas Casanovas 90, 08041, Barcelona, Spain

E-mail address: sredondov@santpau.cat (S. Redondo).

<https://doi.org/10.1016/j.tct.2021.10.015>

2666-6367/© 2021 The American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

survival, and symptom response in patients with SR-cGVHD [9–11].

Taking into consideration that ruxolitinib is likely going to change the standard of care for SR-GVHD, real-world studies will help identify existing and potential pitfalls of this drug not identified in prospective controlled trials. In addition, the currently available data do not allow identification of optimal dosing, especially in the event of toxicity, and do not provide guidance on how should the drug be tapered in responding patients [12,13].

METHODS

Patients

This retrospective observational single-center study included 48 consecutive patients diagnosed with SR-cGVHD after allogeneic HCT who received ruxolitinib under compassionate use institutional protocol between April 2016 and March 2021 in a tertiary university hospital. The follow-up of cases from a multicentric study [12], which represent approximately 10% of the patients reported herein, was updated, and additional data were included. Informed consent was obtained from all treated patients, and the compassionate use was approved by the hospital administration. For safety and response evaluations, all data were collected from the patients' electronic medical record.

The severity of cGVHD was evaluated according to the international consensus headed by the National Institutes of Health [14]. SR-cGVHD was defined as worsening signs/symptoms while on prednisone at a dose of at least 1 mg/kg/day for 1 to 2 weeks or the requirement for prednisone at a dose of at least 0.5 mg/kg/day for at least 4 weeks. Although SR-cGVHD is classically defined as the inability to taper corticosteroids, in this study both types were classified as SR-cGVHD for simplicity.

Ruxolitinib Dosing and Response

Ruxolitinib was initiated orally at a dose of 5 mg twice daily (b.i.d.) and was increased to 10 mg b.i.d. if no response and no attributable toxicities occurred. However, the dose was lowered to 5 mg b.i.d. if ruxolitinib-attributed cytopenia occurred at the high dose, and to 5 mg once daily if it occurred at the initial dose of 5 mg b.i.d.

Patients were scored for their best response at any time after starting ruxolitinib, based on National Institutes of Health criteria [14]. Treatment responses were considered when patients achieved a complete response (CR; defined as the absence of all manifestations of cGVHD) or partial response (PR; defined as an improvement in all organ scores from baseline/laboratory clinical status). The overall response rate (ORR) was the combined CR and PR rates. Other types of responses were considered treatment failures, including of course progression of cGVHD in any organ during ruxolitinib administration. Discontinuation of ruxolitinib due to toxicity was not considered treatment failure.

Supportive Care and Anti-Infectious Prophylaxis

Antiviral prophylaxis consisted of low-dose acyclovir (400 mg b.i.d. i.v. or equivalent oral dosage). Broad-spectrum antifungal prophylaxis (other than fluconazole) was recommended in cases of prolonged high-dose steroid administration; however, the timing and duration of prophylaxis varied considerably among patients. Cotrimoxazole or pentamidine prophylaxis was administered until the CD4 T cell count exceeded 200/mm³ for 6 consecutive months. Serial blood monitoring using quantitative PCR for cytomegalovirus (CMV) was initially done once weekly but later was performed at each follow-up visit, at varying time intervals.

Statistical Methods

Results were analyzed using SPSS version 26.0.01 (IBM, Armonk, NY). *P* values <.05 were considered statistically significant. OS was estimated and plotted using the Kaplan-Meier method. The log-rank test was applied to compare Kaplan-Meier curves. The chi-square test or Fisher's exact *t* test were used to compare the ORR by different variables analyzed. The proportional hazards method was used to estimate the cumulative incidence of relapse and nonrelapse mortality (NRM). Relapse and NRM were competing risks for each other. R version 3.4.3 (R Project for Statistical Computing, Vienna, Austria) was used for the estimation of cumulative incidences. Owing to the small sample size, no multivariate analyses were performed.

RESULTS

Study Population

Between April 2016 and March 2021, 48 patients with SR-cGVHD were treated with ruxolitinib under a compassionate use institutional protocol. Thirty patients (63%) were male,

and the median patient age was 49 years (range, 18 to 72). The most frequent underlying diseases were acute myelogenous leukemia (n = 17; 35%), myelodysplastic syndrome (n = 10; 21%), and acute lymphoblastic leukemia (n = 9; 19%). Most (67%; n = 32) had received a reduced-intensity conditioning regimen (RIC), and 27 patients (56%) had an HLA-identical sibling donor. Twenty-two patients (46%) had developed prior aGVHD grade II-IV. Patient characteristics are summarized in Table 1.

The median time from HCT to the diagnosis of cGVHD necessitating systemic treatment was 16 months (range, 4 to 33 months). Ruxolitinib was started at a median of 5 months (range, 0.6 to 21 months) after the diagnosis of cGVHD. At the time of ruxolitinib initiation, 18 patients (38%) had severe cGVHD, and 29 (60%) had moderate cGVHD. Forty-three patients (90%) had involvement of ≥2 sites or organs. The skin was the most frequently affected organ (n = 35; 73%), followed by the eyes (n = 30; 62%) and the mouth (n = 24; 50%) (Table 2). Twenty-seven patients (56%) had received ≥2 lines of prior therapy (excluding steroids). Twenty-eight patients (58%) were considered to have truly SR-cGVHD (58%), whereas the other 20 had steroid-dependent cGVHD (42%).

Response to Ruxolitinib

After a median duration of treatment of 12 months (range, 2 to 60 months), the ORR was 77% (37 of 48), including 7 patients (15%) with a CR, achieved at a median of 2 months of

Table 1
Patient Characteristics

Characteristic	Value
Patients, n	48
Age, yr, median (range)	49 (18–72)
Male sex, n (%)	30 (63)
Baseline disease, n (%)	
AML	17 (35)
MDS	10 (21)
ALL	9 (19)
Others	12 (25)
Disease status at previous HSCT, n (%)	
CR	39 (82)
PR	4 (8)
SD	4 (8)
Progression	1 (2)
Peripheral blood stem cell source, n (%)	46 (96)
HCT-CI > 3, n (%)	11 (23)
EBMT risk score > 4, n (%)	16 (33)
Donor type, n (%)	
Related HLA-identical	27 (56)
Unrelated identical	19 (40)
Unrelated mismatch	2 (4)
CMV serostatus, donor-/recipient-, n (%)	9 (19)
Donor-recipient sex match: female to male, n (%)	13 (27)
CD34/kg E6, median (range)	5.99 (1.60–9.87)
CD3/kg E8, median (range)	2.08 (0.87–5.46)
Conditioning regimen, n (%)	
Myeloablative	16 (33)
Reduced intensity	32 (67)
GVHD prophylaxis, n (%)	
Sirolimus-tacrolimus	19 (40)
Calcineurin inhibitor-MTX	17 (36)
PTCy	6 (12)
Other	6 (12)
Prior acute GVHD, n (%)	
Yes	34 (71)
Grade II-IV	22 (46)
SR-aGVHD	6 (13)

AML indicates acute myelogenous leukemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; SD, stable disease; MTX, methotrexate; PTCy, post-transplantation cyclophosphamide.

possible in 36 patients (75%), with a $\geq 50\%$ reduction in 24 (50%) and discontinuation in 10 (21%) at the last follow-up. As reported previously [24,25], steroid tapering was initiated as soon as possible, approximately 2 weeks after starting ruxolitinib in responding patients, with dose reductions of at least 5 mg every 3 to 4 weeks. We did not see any cGVHD flares with this taper. Nonetheless, the optimal tapering schedule for ruxolitinib has not yet been established, explaining why many patients with PR continue treatment at the same dose for many months after achieving their best PR.

Rapid ruxolitinib tapering in patients with myelofibrosis often induces a “withdrawal syndrome” characterized by acute relapse of the disease and systemic inflammation, and many clinicians fear a high risk of GVHD flare if ruxolitinib is abruptly discontinued [26]. In our study, after withdrawal of glucocorticoids (or a $>90\%$ steroid reduction and stable daily prednisone dose <10 mg/day without GVHD flair), the ruxolitinib dose was reduced by 50%, followed by prolonged administration of low-dose ruxolitinib; 5 mg of ruxolitinib was administered for >6 months before its complete discontinuation. A ruxolitinib dose reduction was possible in 8 of 37 patients (22%) after achievement of a prolonged CR or a very good PR, without any cGVHD flares.

Some limitations of our study are intrinsic to its real-life and unicentric nature, including a potential bias in patient selection as well as a small sample size. Despite these limitations, however, this analysis demonstrates the efficacy of ruxolitinib in clinical practice to treat SR-cGVHD.

In summary, ruxolitinib treatment appears to be safe in real-life practice, with remission rates in SR-cGVHD consistent with those reported in clinical trials and in heavily pretreated patients. Gradual tapering of both steroids and ruxolitinib appears feasible in a significant number of cases. More studies and longer follow-up are needed to confirm these data, as well as to identify the ideal dose adjustments in the event of toxicity (potentially with pharmacokinetic monitoring) and the ideal tapering schedule in responding patients.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial disclosure: This work was supported in part by grants La Marató 517C/20190318/1330, FIS PI17/01246, AGAUR 2017 SGR 865, and Terce RD16/0011/0028 from the Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad.

Conflict of interest statement: There are no conflicts of interest to report.

Authorship statement: S.R. and I.G.-C. designed the study, performed research, analyzed data, and wrote the manuscript. J.S. and R.M. designed the study and supervised the project. All authors approved the final version of the manuscript. R.M. and I.G.-C. contributed equally as co-senior authors.

REFERENCES

- Baird K, Pavletic SZ. Chronic graft versus host disease. *Curr Opin Hematol*. 2006;13:426–435.
- Mohty B, Mohty M. Long-term complications and side effects after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an update. *Blood Cancer J*. 2011;1:e16.
- Wolff D, Schleuning M, von Harsdorf S, et al. Consensus conference on clinical practice in chronic GVHD: second-line treatment of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17:1–17.
- Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, et al. First and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18:1150–1163.
- Bacigalupo A, Deeg H J, Caballero D, et al. Treatment of patients with steroid refractory acute graft vs host disease (SR-GVHD): a matched paired analysis of anti-CD26 (begecomab) compared to other treatment. *Blood*. 2016;128:671.
- Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, et al. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia*. 2015;29:2062–2068.
- Jagasia M, Perales MA, Schroeder MA, et al. Ruxolitinib for the treatment of steroid-refractory acute GVHD (REACH1): a multicenter, open-label, phase 2 trial. *Blood*. 2020;135:1739–1749.
- Zeiser R, von Bubnoff N, Butler J, REACH2 Trial Group. Ruxolitinib for glucocorticoid-refractory acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2020;382:1800–1810.
- Zeiser R, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib (RUX) vs best available therapy (BAT) in patients with steroid-refractory/steroid-dependent chronic graft-vs-host disease (CGVHD): primary findings from the phase 3, randomized REACH3 study. *Blood*. 2020;136(suppl 1):22–24.
- Locatelli F, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib vs best available therapy in patients with steroid-refractory/dependent chronic graft-vs-host disease (CGVHD): subgroup analyses of overall response rate in the phase 3 REACH3 trial. 56, 202174–76.
- Zeiser R, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib for glucocorticoid-refractory chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2021;385:228–238.
- Escamilla Gómez V, García-Gutiérrez V, López Corral L, et al. Ruxolitinib in refractory acute and chronic graft-versus-host disease: a multicenter survey study. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55:641–648.
- Moiseev IS, Morozova EV, Bykova TA, et al. Long-term outcomes of ruxolitinib therapy in steroid-refractory graft-versus-host disease in children and adults. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55:1379–1387.
- Lee SJ, Wolff D, Kitko C, et al. Measuring therapeutic response in chronic graft-versus-host disease. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. IV. The 2014 Response Criteria Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:984–999.
- Cordonnier C, Maury S, Ribaud P, et al. A grading system based on severity of infection to predict mortality in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transplantation*. 2006;82:86–92.
- Szer J, Butler J, Forcade E, et al. Efficacy and safety of ruxolitinib in patients with steroid-refractory acute graft-vs-host disease after crossover in the phase 3 REACH2 study. *EHA Library*. 2021 324644. S236.
- Bergeron A, Cheng GS. Bronchiolitis obliterans syndrome and other late pulmonary complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Chest Med*. 2017;38:607–621.
- Wu H, Shi J, Luo Y, et al. Evaluation of ruxolitinib for steroid-refractory chronic graft-vs-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *JAMA Netw Open*. 2021;4: e2034750.
- Dietrich S, Falk CS, Benner A, et al. Endothelial vulnerability and endothelial damage are associated with risk of graft-versus-host disease and response to steroid treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19:22–27.
- El Jurdi N, Elhusseini H, Beckman J, et al. High incidence of thromboembolism in patients with chronic GVHD: association with severity of GVHD and donor-recipient ABO blood group. *Blood Cancer J*. 2021;11:96.
- Venugopal S, Mascarenhas J. Novel therapeutics in myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol*. 2020;13:162.
- Heine A, Held SA, Daecke SN, et al. The JAK-inhibitor ruxolitinib impairs dendritic cell function in vitro and in vivo. *Blood*. 2013;122:1192–1202.
- Abedin S, McKenna E, Chhabra S, et al. Efficacy, toxicity, and infectious complications in ruxolitinib-treated patients with corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25:1689–1694.
- Khoury HJ, Langston AA, Kota VK, et al. Ruxolitinib: a steroid-sparing agent in chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2018;53:826–831.
- de Kort EA, van Dorp S, Blijlevens NM, van der Velden JF. Corticosteroid replacement by ruxolitinib in patients with acute GVHD experiencing severe steroid-induced side effects. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55:253–255.
- Mori Y, Ikeda K, Inomata T, et al. Ruxolitinib treatment for GVHD in patients with myelofibrosis. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51:1584–1587.

5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

A lo largo de este capítulo desglosaremos los resultados obtenidos en los trabajos que componen esta tesis doctoral.

El primer objetivo planteado fue adaptar la plataforma estándar de acondicionamiento mieloblástico Cy-ICT tras la introducción de la CyPT como profilaxis de la EICR. Para ello, se incluyeron 87 pacientes con leucemia aguda y SMD de alto riesgo que recibieron un alo-TPH mieloablástico basado en ICT en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau entre enero de 2009 y diciembre de 2021. La fuente de PH más utilizada fue la sangre periférica movilizada con GCSF y el donante HLA idéntico o DNEi y/o con un alelo “mismatch” (teniendo en cuenta los loci HLA A, B, C, DRB1 y DQB1).

Entre enero 2009 y diciembre 2015, 59 pacientes (68%) recibieron la plataforma clásica de acondicionamiento mieloablástico con Cy-ICT (60 mg/kg IV de Cy los días -6 y -5 e ICT a una dosis total de 13,5 Gy fraccionada 6 fracciones durante 3 días [-3, -2 y -1]) y profilaxis convencional de EICR, con ICN y un ciclo corto de MTX. Mientras que, entre 2016 y diciembre de 2021, 28 pacientes (32%) se incluyeron en el nuevo protocolo con Flu-ICT (90 mg/m² IV o 120 mg/m² oral de Flu e ICT fraccionada en 4 o 6 fracciones durante 2 o 3 días a una dosis total de 8,8 o 13,5 Gy en función de la edad y la enfermedad de base), y profilaxis de la EICR con CyPT (50 mg/kg en los días +3 y +4) más tacrolimus en monoterapia.

Los pacientes del grupo Cy-ICT eran más jóvenes (mediana de 37 vs. 45 años), y tenían un DRI y un HCT-CIa más bajo en el momento del trasplante. La toxicidad extrahematológica más frecuente, fue la gastrointestinal, siendo del 69% en el grupo Cy-ICT y del 46% en el grupo Flu-ICT-CyPT ($p = 0,03$). No hubo casos de microangiopatía trombótica o enfermedad venoclusiva asociada al trasplante. El 42% de los pacientes del grupo Cy-ICT reactivaron el CMV frente al 28% en Flu-ICT-CyPT ($p = 0,15$), no hubo casos de enfermedad por CMV.

Todos los pacientes injertaron en el día +45, excepto cuatro pacientes del grupo Flu-ICT-CyPT, de los cuales uno falleció prematuramente por una IFI a nivel del SNC, y los otros tres (11%) desarrollaron una trombocitopenia aislada prolongada en los primeros 60 días tras el alo-TPH. Los pacientes que recibieron Cy-ICT alcanzaron el injerto de neutrófilos y plaquetas antes respecto a Flu-ICT-CyPT (14 vs. 21 días; $p = 0,01$), y (14 vs. 19 días; $p = 0,03$).

La proporción de pacientes que presentaron quimerismo completo del donante en células T en el día +60 fue del 93% en el grupo de Cy-ICT y del 96% en el grupo de Flu-ICT-CyPT ($p = 0,48$).

La duración del ingreso hospitalario fue similar en ambos grupos ($p = 0,28$). En el primer año tras el alta el 78% de los pacientes del grupo Cy-PT requirieron uno o más reingresos [mediana de 2 (rango 0-5)], frente al 36% del grupo Flu-ICT-CyPT [mediana de 0 (rango 0-2)], ($p = 0,01$), debido a complicaciones infecciosas en el 47% ($n = 25$), y a formas graves de EICR en el 43% ($n = 23$).

La incidencia acumulada de EICRa de grado II-IV y III-IV en el día +120 fue del 37% (IC 95%, 25%-50%) y del 30,5% (IC 95%, 19%-42%) en el grupo Cy-ICT, y del 14% (IC 95%, 1%-27%) y 0% en Flu-ICT-CyPT, ($p < 0,05$ para ambas comparaciones). La incidencia acumulada de EICRc moderada-grave a los 12 meses fue del 37% (IC 95%, 25%-49%) en el grupo Cy-ICT, y del 14% (IC 95%, 1%-27%) en Flu-ICT-CyPT, ($p = 0,03$).

En el momento del corte de los datos, julio de 2022, la mediana de seguimiento de los supervivientes fue de 82 meses (rango 10-15) en el grupo Cy-ICT y 22 meses (rango 6-43) en Flu-ICT-CyPT. La SG y SLP a 12 meses fue del 76% (IC 95%, 65%-87%) y del 74% (IC 95%, 63%-85%) en el grupo Cy-ICT, y del 85% (IC 95%, 71%-99%) y 81% (IC 95%, 67%-96%) en el grupo Flu-ICT-CyPT, respectivamente ($p = 0,18$, $p = 0,7$). La incidencia de recaída a 1 año fue del 11% en ambos grupos. A los 12 meses postrasplante, la incidencia de pacientes vivos, libres de EICR y de recaída, y sin inmunosupresión sistémica fue del 15% en Cy-ICT y del 50% en Flu-ICT-CyPT, respectivamente ($p = 0,01$).

La incidencia acumulada de MRT a los 100 días y a los 12 meses postrasplante fue del 7% (IC 95%, 0,5%-13%) y del 19% (IC 95%, 9%-29%) en el grupo Cy-ICT y del 3,5% (IC 95%, 3%-10%) en Flu-ICT-CyPT, respectivamente ($p = 0,05$). Las causas de MRT en el grupo Cy-ICT fueron: EICRa ($n = 9$, 15,5%) e IFI ($n=2$, 3,5%), mientras que en el grupo Flu-ICT-CyPT sólo hubo una muerte debida a una IFI previa al injerto.

En el análisis univariante, la única variable que se asoció con un aumento de la MRT y una disminución de la SG fue la EICRa de grado III-IV [HR 13,89 (IC 95%, 3,75-51,42); $p = 0,01$, y HR 3,5 (IC 95%, 1,5-8,5); $p < 0,01$, respectivamente]. En el análisis univariante, se observó una tendencia en la reducción de la MRT a los 12 meses en el

grupo Flu-ICT-CyPT (HR 0,18 [IC 95%, 0,02-1,2]; p = 0,1), debido a la reducción de la mortalidad asociada a la EICRa de grado III-IV (HR 0,07 [IC 95%, 0,01- 0,36]; p < 0,01)]. En el análisis multivariante, las variables que se asociaron con un aumento de la MRT fueron la EICRa de grado III-IV y la relación donante mujer y receptor hombre [HR 28,7 (IC 95%, 1,7-4,65); p = 0,02 y HR 12,3 (IC 95%, 1,5-9,7); p < 0,01].

El segundo objetivo planteado, fue analizar los resultados de la adaptación de la plataforma de acondicionamiento en pacientes frágiles en MF, reduciendo la dosis total de la CyPT (60 mg/kg), con el fin de disminuir la toxicidad asociada con el procedimiento, sin aumentar la EICR. Para ello, se incluyeron 14 pacientes con MF que recibieron en la mayoría de los casos un alo-TIR, en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau entre marzo de 2018 y abril del 2022. La fuente de PH más utilizada fue la sangre periférica movilizada con GCSF y el donante hermano HLA idéntico o DNE idéntico y/o con un alelo “mismatch” (teniendo en cuenta los loci HLA A, B, C, DRB1 y DQB1).

La mediana del tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta el TPH fue de 19 meses (rango 2-114), y la mediana de edad en el momento del TPH fue de 59 años (rango 41-67). Seis pacientes tenían MF primaria (43%), JAK2-V617F mutado el 43%, un riesgo intermedio-2 o alto según el índice DIPSS-plus el 79%, y un riesgo alto según el índice MIPSS-70+ el 71%. La mayoría de los pacientes presentaban una esplenomegalia palpable por debajo del margen costal izquierdo (n=11, 78,6%). Todos los pacientes recibieron ruxolitinib antes del trasplante, pero sólo 4 (29%) alcanzaron una respuesta parcial, a nivel de reducción del bazo. Sólo hubo un caso de transformación a leucemia aguda. Los pacientes que recibieron ruxolitinib, redujeron progresivamente la dosis hasta suspenderla al inicio del régimen de acondicionamiento.

Cinco pacientes (36%) recibieron PH de un DEi, 6 (43%) de DNEi y 3 (21%) de DNEm. La mediana de células CD34+/kg infundidas fue de 5,5 x 10⁶/kg (rango 0,4-6). Ocho pacientes (57%) tenían una puntuación de riesgo EBMT ≥ 5 y el 50% una puntuación HCT-CIa ≥ 2 .

Todos los pacientes injertaron de neutrófilos y plaquetas con una mediana de 21 días (rango 17- 31) y 31 días (rango: 11-249), respectivamente. La incidencia acumulada de injerto de plaquetas a los 100 días fue del 79% (IC 95%, 57-100). Sólo se produjo mucositis grave de grado III-IV en los 2 únicos pacientes que recibieron acondicionamiento mieloablativo (14%). No hubo casos de microangiopatía trombótica,

cistitis hemorrágica, síndrome de obstrucción sinusoidal, ni se identificaron eventos cardíacos agudos. En la última visita de seguimiento, 11 pacientes evaluables (78,6%) presentaban quimerismo completo del donante.

La incidencia acumulada de EICRa global, grado II-IV y III-IV en el día +120 fue del 50% (IC 95%, 24-76), 28,6% (IC 95%, 5-52), y 7% (IC 95%, 0-21), respectivamente. Tres de los 4 pacientes con EICR grado II-IV (75%) fueron corticodependientes, y 2 de ellos respondieron a ruxolitinib. El paciente restante falleció en el día +74 por ascitis refractaria idiopática que se clasificó como EICR hepática de grado 4 (7%). La incidencia acumulada de EICRc global y moderado-grave a los 2 años fue del 36% (IC 95%, 11%- 61%) y del 14% (IC 95%, 1%-33), respectivamente.

Once de 14 pacientes (78,6%) desarrollaron infecciones graves que requirieron ingreso en el primer año post-TPH. El 64% debido a infecciones bacterianas, el 50% víricas y el 14% fúngicas. Un paciente (7%) desarrolló una cistitis hemorrágica de aparición tardía relacionada con el virus BK que se resolvió con soporte. Cuatro pacientes reactivaron CMV (29%), con una mediana de tiempo desde el trasplante hasta la reactivación de 89 días (rango 20-198). No hubo casos de enfermedad por CMV ni muertes relacionadas con la infección.

En el momento del corte de los datos, septiembre de 2022, la mediana de seguimiento de los supervivientes fue de 28 meses (rango 8-55). La SG y la SLP a 2 años fue del 86% (IC 95%, 67%-100%) y del 69% (IC 95%, 34%-96%). Un paciente (7%) recayó 1 año después de la infusión y recibió un segundo trasplante con el mismo protocolo en noviembre de 2022 (actualmente vivo y bien a los 3 meses después del trasplante). Tres de los 8 pacientes con una puntuación de riesgo EBMT alta (valor ≥ 5) fallecieron tras el trasplante frente a ninguno de los 6 con una puntuación más baja. A los 12 meses del trasplante, 5 de los 12 pacientes evaluables (41%) estaban libres de EICR, recaída y sin inmunosupresión sistémica.

La incidencia de MRT a los 100 días y a los 12 meses postrasplante fue del 7% (IC 95%, 1%-21%) y del 14% (IC 95%, 1%-33%), respectivamente. Las causas de MRT incluyeron: EICRa (n=1, 7%), EICRc (n=1, 7%) y neoplasia secundaria (n=1, 7%).

El tercer y último objetivo de la presente tesis, fue evaluar la eficacia y seguridad del tratamiento de rescate con ruxolitinib en pacientes pluritratados con EICR crónica refractaria/dependiente de esteroides. Para ello, se incluyeron 48 pacientes con EICRc

refractaria/dependiente de esteroides que recibieron ruxolitinib dentro de un protocolo institucional del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en forma de “uso compasivo” entre abril de 2016 y marzo del 2021.

Treinta (63%) pacientes eran varones con una mediana de edad de 49 años (rango 18-72). Las enfermedades subyacentes más frecuentes fueron: LMA (n= 17, 35%), SMD (n=10, 21%) y LLA (n=9, 19%). La mayoría [67% (n=32)] habían recibido un alo-TIR de DEi en 27 casos (56%). Veintidós pacientes (46%) habían desarrollado EICR aguda grado II-IV previa.

La mediana de tiempo transcurrido desde el TPH hasta el diagnóstico de EICRc fue de 16 meses (rango 4-33). El ruxolitinib se inició tras una mediana de 21 meses (rango 0,6-214) tras el diagnóstico de la EICRc. En el momento del inicio de ruxolitinib, 18 pacientes tenían EICRc grave (38%), y 29 pacientes tenían EICRc moderada (60%). El 90% (n=43) tenía ≥ 2 localizaciones u órganos afectados, siendo la piel el órgano más frecuentemente afectado (n=35, 73%), seguido de los ojos (n=30, 62%) y la boca (n=24, 50%). Cabe señalar que 27 pacientes (56%) habían recibido dos o más líneas de tratamiento previo (excluyendo los corticoides). Veintiocho pacientes tenían una EICRc refractaria a los esteroides (58%), y 20 (42%) tenían una EICRc dependiente de esteroides.

Tras una mediana de duración del tratamiento de 12 meses (2-60 meses), la respuesta global fue del 77% (37/48), con un 15% (n=7) de respuestas completas tras una mediana de 2 meses de tratamiento (rango 0,5-8). Once pacientes (23%) no alcanzaron respuesta tras el tratamiento. La mediana de duración de la respuesta fue de 11 meses (rango 0-55). Por afectación orgánica, la respuesta global en pacientes con esclerodermia fue del 77% (27/35), del 45% con afectación intestinal (5/11) y del 33% en los casos con EICRc pulmonar (4/12).

La dosis media de prednisona concomitante al inicio de ruxolitinib fue de 0,3 mg/kg (0-1,5 mg/kg). En el último seguimiento, se produjo una reducción de esteroides en 36 pacientes (75%), siendo esta reducción de hasta un 50% de la dosis inicial en 24 pacientes (50%), llegándose a suspender en 10 pacientes (21%).

No hubo diferencias de respuesta entre los pacientes con EICRc moderada y los pacientes con EICRc grave (74% frente a 77%; p = 0,60). La respuesta no se vio influida por el número de órganos implicados ni por el número de líneas previas de tratamiento (75% en

pacientes con un órgano frente a 74% con más de un órgano; $p = 0,4$) y (76% con una línea frente a 73% con dos o más líneas; $p = 0,9$, respectivamente).

Treinta y un pacientes (64%) desarrollaron al menos un efecto secundario atribuido a ruxolitinib. El efecto secundario más frecuente fue anemia ($n=16$, 33%) (6% grado III-IV), seguida de trombocitopenia ($n=8$, 17%) (8% grado III-IV), infección grave ($n=9$, 18%) según la definición de Cordonnier et al¹²⁰, reactivación del citomegalovirus ($n=4$, 8%), toxicidad hepática moderada ($n=5$, 10%) y eventos tromboembólicos ($n=5$, 10%), incluyendo 3 tromboembolismos pulmonares y 2 trombosis venosas profundas. Cinco pacientes (10,5%) interrumpieron el tratamiento debido a infecciones graves (neumonía aguda sin documentación microbiológica ($n=2$), IFI ($n=1$) y neumonía por *Pneumocystis jirovecii* ($n=1$)) y diarrea grave no infecciosa ($n=1$). Cuatro pacientes (8%) redujeron la dosis de ruxolitinib debido a citopenias graves ($n=3$) o deterioro hepático moderado ($n=1$).

En el corte de datos, marzo de 2021, la mediana de seguimiento de los supervivientes tras el inicio de ruxolitinib fue de 20 meses (rango 1,5-60). La incidencia acumulada de MRT a los 2 años fue del 15% (IC 95%, 6%-31%). Las causas de MRT incluyeron IFI ($n=4$), neumonía sin documentación microbiológica ($n=2$) y shock séptico ($n=1$); tres de estos pacientes habían fracasado al tratamiento y 4 de ellos habían logrado una RP. La SG a 2 años fue del 83% ($n=40$) (IC 95%, 68%-93%), siendo significativamente superior en los pacientes que respondieron a ruxolitinib frente a los que no respondieron [88% (IC 95%, 65%-96%) vs. 49% (IC 95%, 12%-78%); $p = 0,01$]. Dos pacientes (4%) con RP a ruxolitinib, recayeron de la neoplasia subyacente.

En total, el 46% de los pacientes ($n=22$) suspendieron ruxolitinib debido a: falta de respuesta ($n=10$, 21%), toxicidad relacionada con el fármaco ($n=5$, 10,5%), muerte ($n=4$, 8,5%), recaída ($n=2$, 4%) y RC prolongada ($n=1$, 2%). En el último seguimiento, 12 pacientes (25%) habían reducido la dosis de ruxolitinib debido a toxicidad relacionada con el fármaco ($n=4$, 8%), o al lograr al menos una MBRP sostenida ($n=8$, 17%).

6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

El alo-TPH es una opción terapéutica frente a diversas enfermedades hematológicas tanto malignas como no malignas, lo que condiciona la supervivencia a corto plazo al asociarse a una MRT variable en función de las características del paciente, el tipo de donante y la intensidad del acondicionamiento, entre otros factores. Afortunadamente, gracias a los avances en los regímenes de acondicionamiento, en la profilaxis de la EICR y en la profilaxis antimicrobiana, se ha logrado mejorar la seguridad del procedimiento, reduciendo la morbimortalidad asociada^{65,121,122}. Como resultado, se ha incrementado de manera sustancial el número de pacientes candidatos que pueden optar al alo-TPH con edades cada vez más avanzadas.

El aumento en la cantidad de pacientes trasplantados unido a los avances en las técnicas del TPH, ha llevado a la identificación de nuevos factores de riesgo para el desarrollo de la EICR, así como a un incremento de pacientes con un alto riesgo de desarrollarla. Entre los factores predisponentes para el desarrollo de la EICR se encuentran: los donantes haploidénticos, los DNEm, la edad avanzada, el mantenimiento postrasplante, el uso previo de inhibidores de “checkpoint”, y la realización de trasplantes en enfermedades hematológicas no malignas⁷⁴.

En la última década, la introducción de la CyPT inicialmente en el entorno haploidéntico de familiares de primer grado, amplió la reserva de donantes, al equiparar el uso de DE con HLA incompatible con los de DEi, al demostrar eficacia y seguridad en la reducción de la EICR aguda, crónica severa, y de la MRT sin aumentar la tasa de recaída al compararse con la profilaxis clásica de la EICR con ICN y metotrexato⁵⁹⁻⁶⁴. Este éxito, ha llevado a los investigadores a explorar el uso de la CyPT como profilaxis de la EICR en DEi, DNEm y Haplo-TPH con familiares de segundo grado, con muy buenos resultados, por lo que se espera que se generalice su uso de manera universal en todo tipo de donantes, de acondicionamientos y de enfermedades hematológicas, tanto malignas como no malignas, las cuales no se benefician del efecto enfermedad injerto contra tumor^{65,66,123}.

Desgraciadamente, pese a estas grandes mejoras en el manejo del paciente trasplantado, la EICR sigue siendo la principal causa de morbimortalidad relacionada con el trasplante. Es evidente la necesidad de desarrollar nuevas estrategias de prevención que eviten la aparición de formas graves de la EICR, así como de nuevos tratamientos para aquellos casos en los que la EICR no responde o es dependiente de los esteroides.

En este sentido, en nuestro centro, decidimos introducir la CyPT como profilaxis estándar de la EICR fuera del entorno haploidéntico en enero 2016. Para ello, fue necesario realizar modificaciones en las plataformas de acondicionamiento clásicas. En el caso del trasplante mieloablativo basado en ICT, nos basamos en el trabajo pionero de Bornhäuser et al¹²⁴, quienes demostraron que Flu-ICT (8 Gy) era equivalente, si no superior, a Cy-ICT (12 Gy) para receptores de alo-TPH con LMA en primera RC. De esta manera, eliminamos la Cy del acondicionamiento y la administramos postrasplante como CyPT.

En uno de los trabajos que componen la tesis doctoral, incluido en la sección de anexos, comparamos retrospectivamente el esquema estándar Cy-ICT (13,5 Gy) y profilaxis convencional de EICR con ICN con MTX, frente a Flu-ICT-CyPT con dosis de ICT ajustada (8,8 o 13,5 Gy) en función de la edad del paciente y/o comorbilidad. El ajuste de ICT lo realizamos en base a los resultados del estudio alemán que mostró que Flu-ICT (8 Gy) para pacientes mayores de 40 años resultaba en una menor MRT y una mejor SG en pacientes con LMA. El estudio incluyó 87 pacientes con leucemia aguda y SMD de alto riesgo receptores de un alo-TPH de DEi, DNEi o DNEm.

El primero de los hallazgos reveló que la toxicidad extrahematológica grave, principalmente debida a causas gastrointestinales, fue mayor en el grupo Cy-ICT (69% vs. 46%). A diferencia de estudios anteriores, que informaron un mayor riesgo de lesión endotelial con las plataformas mieloablativas basadas en ICT, en nuestro estudio no observamos casos de microangiopatía trombótica ni de enfermedad venooclusiva relacionada con el TPH en ninguno de los grupos¹²⁵.

Es importante destacar que las tasas de injerto fueron similares en ambos grupos, sin que se produjeran casos de fracaso del injerto primario o secundario. En la cohorte de Flu-ICT-CyPT, hubo retraso en el injerto de neutrófilos (sin GCSF) y, 3 pacientes presentaron trombocitopenia prolongada tras el trasplante, en consonancia con las observaciones actuales que hacen hincapié en el retraso del injerto en pacientes que reciben CyPT¹²⁶.

En el estudio actual, la incidencia acumulada de EICRa grado II-IV fue sustancialmente inferior en el grupo de Flu-ICT-CyPT comparado con Cy-ICT, y cabe destacar que no hubo casos de EICRa severo grado III-IV en el grupo Flu-ICT-CyPT, lo que condujo a una reducción del número de reingresos en este grupo de pacientes. A pesar de una mayor mediana de edad y del HCT-CIa en el grupo Flu-ICT-CyPT, la incidencia de MRT a los 100 días y a los 12 meses fue significativamente menor, aunque no encontramos

diferencias en la SG a 1 año. Dada la relación obvia entre la aparición de EICRa grave de grado III-IV y la MRT temprana, es innegable que la drástica reducción de esta complicación en el grupo Flu-ICT-CyPT fue un factor determinante en la reducción de MRT.

Con respecto a las formas moderadas y graves de la EICRc a los 12 meses, la incidencia también fue significativamente menor en Flu-ICT-CyPT, lo que condujo a una mayor tasa de supervivientes libres de recaída, de EICR, y de inmunosupresión activa a 1 año, indicador indirecto de la mejora de la calidad de vida en los supervivientes del alo-TPH.

Las principales limitaciones de este estudio fueron: el pequeño tamaño de la muestra y el breve seguimiento; la heterogeneidad de las enfermedades subyacentes (LMA, LLA y SMD), aunque nuestro estudio no pretendía en modo alguno analizar el impacto sobre la recaída de la nueva plataforma Flu-ICT-CyPT; la comparación de dos cohortes consecutivas de pacientes trasplantados durante un periodo de más de 10 años. Somos conscientes de que todos los estudios de registro y unicéntricos demuestran sistemáticamente que la MRT se reduce con el tiempo, por lo que las comparaciones de pacientes trasplantados durante diferentes periodos de tiempo son cuestionables³⁵; y, por último, la comparación de la nueva plataforma Flu-ICT-CyPT reduciendo la ICT en >de 40 años de 13.5 a 8.8 Gy, respecto al protocolo anterior Cy-ICT con 13.5 Gy de ICT para todos los pacientes. A pesar de estas advertencias, nuestro único objetivo era reducir la MRT precoz, secundaria a la reducción de la EICR grave, en pacientes que reciben un acondicionamiento mieloablativo basado en ICT, mediante la introducción de la CyPT como profilaxis de la EICR.

Al menos en nuestra experiencia unicéntrica, la estrategia parece haber funcionado y está en línea con el estudio retrospectivo del EBMT ALWP recientemente publicado en pacientes con LLA en primera RC en los que se reduce la dosis total de la ICT¹²⁷. Sin embargo, tanto el estudio alemán como el del EBMT no incluyeron CyPT como profilaxis de la EICR, y nuestro estudio sugiere que la dosis de ICT ajustada en función de la edad, puede obtener resultados óptimos al incorporar la CyPT.

A pesar de los esfuerzos realizados en el campo de la profilaxis de la EICR, sigue existiendo un amplio margen de mejora. Una de las posibles nuevas estrategias de investigación es la posibilidad de reducir la dosis total de la CyPT en pacientes seleccionados en función de la edad, y/o comorbilidad con el fin de reducir la toxicidad

asociada a la CyPT sin aumentar la incidencia de EICR, teniendo en cuenta la enfermedad y el tipo de donante.

Para ello, diseñamos una nueva estrategia en marzo de 2018 que consistía en reducir la dosis de CyPT de 50 a 30 mg/kg/día los días +3 y +4 (dosis total de 60 en lugar de 100 mg/kg) con el objetivo de disminuir la toxicidad relacionada con la CyPT, y el riesgo de fracaso del injerto, en pacientes con MF con intermedio-alto riesgo candidatos a recibir un alo-TPH, al seguir siendo el único tratamiento curativo en esta patología del que tan sólo se benefician un 10 % de los pacientes debido a la edad avanzada y comorbilidades que presentan¹²⁸⁻¹³¹.

En el primero de los trabajos que componen esta tesis doctoral, analizamos retrospectivamente los resultados de los pacientes con MF que recibieron un alo-TPH de DEi, DNEi o DNEm con dosis reducidas de CyPT como profilaxis de EICR, siendo nuestro objetivo primario reducir la toxicidad postrasplante precoz, sin aumentar la incidencia de la EICR.

Hasta la fecha, se han utilizado numerosos regímenes de acondicionamiento en pacientes con MF y probablemente no exista la mejor plataforma para todos los casos. Un reciente estudio retrospectivo del EBMT publicado en 2019 informó que la SG y la MRT era equivalente entre los receptores de regímenes de intensidad reducida y los mielobláticos¹³². Más recientemente, se ha demostrado que la estrategia de acondicionamiento que incluye dos agentes alquilantes, como por ejemplo busulfán y tiotepa, junto con fludarabina, reduce significativamente el riesgo de recaída en comparación con los regímenes con un agente alquilante único en combinación con fludarabina¹³³. Nuestra nueva plataforma de acondicionamiento para pacientes ancianos y/o frágiles con MF incluyó dosis bajas de tiotepa en asociación con fludarabina y un agente alquilante (busulfán o melfalán), mientras que el protocolo mieloblático con FluBu-4, se utilizó en los pacientes jóvenes sin comorbilidad.

En nuestro estudio, observamos toxicidad gastrointestinal de grado III-IV únicamente en los dos pacientes que recibieron acondicionamiento mieloablático. Es importante destacar que no hubo casos de microangiopatía trombótica, enfermedad venooclusiva o eventos cardíacos, complicaciones agudas comúnmente asociadas a la CyPT¹³⁴⁻¹³⁶.

El fallo del injerto es una complicación frecuente en pacientes con MF sometidos a un alo-TPH, con una incidencia que varía entre el 2% y el 28%¹³⁵. En nuestro estudio, sin

embargo, todos los pacientes injertaron con éxito, a pesar de que la mayoría de ellos presentaban esplenomegalia sintomática en el momento del alo-TPH (78,6%). Es importante destacar que, en consonancia con informes previos¹³³, se observó una recuperación lenta de neutrófilos (sin G-CSF) y una trombocitopenia prolongada después del trasplante. No hay pruebas de que la reducción de la dosis de PTCy haya tenido algún impacto en la lenta recuperación hematológica.

Hasta la fecha, febrero de 2023, se han publicado pocos estudios en otras patologías sobre el uso de dosis reducidas de CyPT en receptores de un alo-TPH de DEi, DNEi o DNEm con sangre periférica como fuente de PH¹³⁷⁻¹⁴¹. Estos estudios combinaron dosis reducidas de CyPT (de 20 a 40 mg/kg/día durante 2 días) con dosis bajas de ATG en algunos casos, y CsA más MFM tras CyPT. En un estudio centrado en receptores de DNEm con CyPT a 40 mg/kg/día x 2 días, sin ATG, la incidencia de EICR grado II-IV y EICRc moderada-grave a 1 año fue del 15% y 5% respectivamente, frente al 50% y 18% en la cohorte histórica sin CyPT¹⁴².

Fuera del ámbito del presente estudio, nos gustaría destacar que en el contexto del haplo-TPH, una dosis más baja de CyPT (25 mg/kg/día los días +3 y +4) parece sólo estar justificada al usar médula ósea como fuente de PH⁶⁷, o con sangre periférica a una dosis de 25-40 mg/kg/día en los días +3 y +4, en combinación con dosis bajas de ATG más un ICN +/- MFM^{143,144}.

En nuestro estudio, observamos una baja incidencia acumulada de EICR grado II-IV, a pesar de utilizar tacrolimus como único agente inmunosupresor junto con la dosis reducida de CyPT. Además, la incidencia de formas moderadas y graves de EICRc a los 2 años también fue baja, lo que resultó en una incidencia de pacientes vivos libres de EICR, de recaída y de inmunosupresión a 1 año del 41%. Además, la MRT a los 100 días y 1 año fue baja, del 7% y del 14%, respectivamente, siendo este resultado mejor respecto al de los estudios previamente publicados, en los que oscilaba entre el 13.5% y el 43%^{145,146}.

La principal limitación del estudio fue el pequeño tamaño de la muestra, pero teniendo en cuenta los prometedores resultados encontrados en estos pacientes tan difíciles de trasplantar, nos ha llevado a considerar el uso de dosis reducidas de CyPT en los receptores de un DEi, DNE o DNEm con sangre periférica como fuente de PH.

A pesar de las grandes mejoras en la profilaxis de EICR descritas en este capítulo, aproximadamente un tercio de los pacientes que la desarrollan no responden al tratamiento de primera línea, que consiste en corticoides sistémicos tanto para las formas agudas como crónicas. La SG en estos casos es sólo de un 20-30%, siendo clave la respuesta al tratamiento inmunosupresor de segunda línea. En este escenario, ruxolitinib ha demostrado ser el primer agente con una eficacia superior frente a la mejor terapia disponible, y por tanto se ha convertido en el nuevo estándar de tratamiento para pacientes con EICR tanto aguda como crónica refractaria o dependiente de esteroides^{91-93,111-113}.

En el segundo de los trabajos que componen esta tesis doctoral, realizamos un análisis retrospectivo en vida real de los resultados obtenidos en 48 pacientes con EICR refractaria y /o dependiente de esteroides que recibieron ruxolitinib como uso compasivo dentro de un protocolo institucional. A destacar, que la mayoría de los pacientes habían recibido profilaxis clásica de la EICR con ICN más MTX o sirolimus-tacrolimus, y sólo un 12 % había recibido CyPT. Además, el 56% de los pacientes habían sido tratados previamente con más de dos líneas de tratamiento tras haber fracasado a esteroides.

La respuesta global de los pacientes a ruxolitinib fue del 77%, con predominio de RP (62%). Estos resultados son similares a los publicados previamente en otros estudios retrospectivos¹⁴⁷. Nuestro análisis no identificó diferencias en términos de respuesta, entre los pacientes con enfermedad moderada o grave (74% vs. 77%; $p = 0,60$), o en función del número de órganos afectados (75% para 1 órgano vs. 74% para 2 órganos; respectivamente, $p = 0,4$). Sorprendentemente, las tasas de respuesta también fueron similares independientemente del número de líneas de tratamiento previas (76% para 1 línea vs. 73% para 2 líneas; respectivamente, $p = 0,9$).

Cabe destacar que en el ensayo REACH-2, 49 pacientes con EICR secundaria que no respondieron en el grupo control fueron tratados con ruxolitinib, y mostraron una tasa de respuesta similar a la observada en el grupo que recibió ruxolitinib desde el principio, lo que respalda el uso de ruxolitinib en pacientes que han fracasado a terapias sistémicas más allá de los esteroides¹⁴⁸.

Se observaron respuestas significativas en pacientes con afectación cutánea (77%) e intestinal (45%), siendo significativamente menor en pacientes con bronquiolitis obliterante (33%). De hecho, en el ensayo REACH-3¹¹³, las respuestas fueron muy bajas

en los pacientes con afectación ocular (26%), hepática (24,4%) y, sobre todo a nivel pulmonar (8,6%)¹⁴⁹.

En el presente estudio, el perfil de seguridad fue manejable y coherente con informes previos^{113,147,150}. Las citopenias fueron los efectos secundarios más frecuentes, que se manejaron reduciendo la dosis de ruxolitinib o añadiendo agentes estimuladores. Ocho de los 16 pacientes (50%) que desarrollaron anemia moderada a grave recibieron un agente estimulante de la eritropoyetina durante el periodo del estudio, lo que permitió evitar la interrupción de la dosis de ruxolitinib. La incidencia de infecciones de grado 3 fue del 18% (n = 9), similar a los datos publicados anteriormente¹¹³.

Múltiples estudios han demostrado que la EICR y su tratamiento aumentan el riesgo de reactivación del CMV⁹¹. Sin embargo, en este estudio la tasa de reactivación de CMV fue baja, del 8%, similar a la observada en el ensayo REACH-3¹¹³.

La EICR es conocida por ser un estado protrombótico por lo que los pacientes afectados corren un mayor riesgo de sufrir un evento tromboembólico^{151,152}. En nuestra serie, el 10% de los pacientes (n = 5) tuvieron un evento tromboembólico, incluyendo 3 casos de embolia pulmonar y 2 casos de trombosis venosa profunda, pero ninguno requirió suspender el tratamiento con ruxolitinib. Por el contrario, varios informes en pacientes tratados por MF sugieren que el uso de ruxolitinib puede reducir el riesgo trombótico, mediante la reducción de la activación endotelial proadhesiva^{153,154}. Aunque nuestra tasa de eventos tromboembólicos fue elevada, este hallazgo no se ha descrito en REACH-2 ni REACH-3, y, por tanto, podría haber ocurrido simplemente por casualidad en nuestra población.

En nuestra serie, la infección fue la causa más frecuente de interrupción del tratamiento y de MRT. A pesar de los importantes avances en este campo, la infección grave sigue siendo la causa más frecuente de morbimortalidad en pacientes con EICR, incluso recibiendo la profilaxis antimicrobiana óptima disponible en la actualidad¹¹³. Los datos publicados sobre los patrones de infecciones con ruxolitinib en receptores de trasplante de células madre son limitados¹⁵⁵, por lo que sería interesante realizar un análisis detallado en esta población.

La reducción progresiva de los agentes inmunosupresores, especialmente los esteroides, es uno de los objetivos cruciales en los pacientes con EICR refractario. En nuestro estudio, la reducción de la dosis de esteroides fue posible en el 75%, siendo al menos del

50% en la mitad de los pacientes, y se llegaron a suspender en el 21%. Como se ha reportado previamente^{156,157}, iniciamos la reducción de los esteroides lo antes posible, aproximadamente 2 semanas después del inicio de ruxolitinib en los pacientes que respondieron al tratamiento, con reducciones de dosis de al menos 5 mg cada 3 a 4 semanas. Afortunadamente, no observamos empeoramiento de la EICRc tras la reducción.

Aún no se ha establecido la pauta de reducción óptima de ruxolitinib en pacientes que alcanzan respuesta, lo que explica por qué muchos pacientes con RP mantenida continúan con la misma dosis de tratamiento durante muchos meses.

La reducción rápida de ruxolitinib en pacientes con MF suele inducir un "síndrome de abstinencia" caracterizado por una recaída aguda de la enfermedad, por lo que en el caso de EICR se teme el empeoramiento de la EICR en pacientes que alcanzan al menos una RP¹⁵⁸. En nuestro estudio, tras la retirada de esteroides (al menos una reducción del >90% y/o una dosis diaria estable de prednisona <10 mg/día, sin EICR activo), iniciamos la reducción del 50% de la dosis total de ruxolitinib, seguida de una administración prolongada de dosis bajas de 5 mg durante más de 6 meses antes de interrupción completa. Fue posible una reducción de la dosis de ruxolitinib en 8 de 37 pacientes (22%) tras alcanzar una RC prolongada o una MBRP, sin que se produjera ninguna reactivación de la EICR.

Algunas limitaciones de nuestro estudio son intrínsecas a su naturaleza retrospectiva y unicéntrica, incluido un posible sesgo en la selección de pacientes, así como el pequeño tamaño de la muestra. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, este análisis demuestra la eficacia de ruxolitinib en la práctica clínica para tratar la EICRc refractaria/dependiente de esteroides.

En resumen, el tratamiento con ruxolitinib parece ser seguro en la práctica clínica, llegando a alcanzar respuestas completas de la EICRc refractaria a esteroides en pacientes muy pretratados. Se necesitan más estudios y un seguimiento más prolongado para confirmar estos resultados, así como para identificar los ajustes de dosis necesarios en caso de toxicidad, y establecer una pauta de reducción adecuada para los pacientes que responden al tratamiento.

Es importante destacar que aún queda mucho por investigar y desarrollar en cuanto a nuevas terapias para mejorar los resultados en casos de EICR refractaria o dependiente

de esteroides. El ruxolitinib puede no ser efectivo en hasta un 40% de los casos, y alrededor del 20% de los pacientes pueden experimentar efectos adversos moderados o graves que requieran de la suspensión del tratamiento. Por lo tanto, se necesitan nuevas opciones terapéuticas basadas en la biología de la EICR que permitan intervenciones más inmunoselectivas adaptadas a cada paciente con un perfil de seguridad aceptable.

7. CONCLUSIONES

Como resultado del trabajo de investigación, podemos concluir:

1. La introducción de CyPT como profilaxis de la EICR, ha supuesto un cambio en el diseño de las plataformas de acondicionamiento. La nueva plataforma de acondicionamiento mieloablativo Flu-ICT-CyPT, con dosis ajustadas de ICT en función de la edad, de la patología y comorbilidades, para pacientes con leucemia aguda y SMD de alto riesgo que reciben un alo-TPH de DEi, DNEi y/o DNEm ha demostrado ser segura y eficaz. Presenta una menor incidencia de EICR aguda y crónica severa, lo cual ha permitido reducir de manera significativa la MRT precoz, y mejorar la calidad de vida de los pacientes.
2. La reducción de la dosis total de CyPT a 60 mg/kg junto con tacrolimus como profilaxis de la EICR en pacientes con MF, sometidos en su mayoría a un alo-TIR de DEi, DNEi y/o DNEm ha demostrado ser segura y eficaz. La nueva estrategia ofrece resultados favorables con un perfil de toxicidad aceptable y una menor incidencia de EICR aguda y crónica grave, lo cual ha supuesto una reducción de la MRT precoz. Estos hallazgos podrían permitir la extensión de los beneficios del alo-TPH a pacientes con MF de mayor edad cuidadosamente seleccionados. Se necesitan más estudios para confirmar estos resultados, y aclarar el impacto en la recaída de la enfermedad y en la supervivencia a largo plazo.
3. La administración de ruxolitinib en la práctica clínica como tratamiento de rescate para pacientes con formas moderadas-severas de la EICRc refractaria/dependiente de esteroides ha demostrado ser segura y eficaz. Asocia tasas de respuestas globales superiores al 50%, independientemente del número de tratamientos previos o la gravedad de la EICRc. En el grupo de pacientes respondedores, permite reducir gradualmente la dosis de esteroides e incluso suspenderlos. De igual manera, en aquellos pacientes que adquieren una respuesta global mantenida, es factible la retirada gradual del ruxolitinib.

8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Los trabajos que componen esta tesis doctoral tratan sobre la EICR, la cual sigue siendo la principal causa de morbilidad no asociada a recaída en receptores de un alo-TPH.

Los siguientes pasos para mejorar los resultados finales del procedimiento pueden desglosarse en estas dos áreas de estudio:

1. Profilaxis de la EICR

- a. Protocolizar la reducción de la CyPT fuera del entorno Haplo-TPH en otras enfermedades hematológicas, en base a los excelentes resultados obtenidos en pacientes frágiles con MF, a una dosis total de 60 mg/kg (en lugar de 100 mg/kg) en pacientes que reciben un alo-TPH de DEi o DNEi, y de 80 mg/kg en pacientes que reciben un alo-TPH de DNEm, con el fin de reducir la toxicidad precoz postrasplante y el retraso de la reconstitución hematopoyética, sin aumentar la incidencia de la EICR.
- b. Participación en ensayos clínicos en los que se evalúen las combinaciones de nuevos agentes prometedores para la profilaxis de la EICR, como es el abatacept y los inhibidores de JAK con la CyPT.

2. Tratamiento de la EICR

- a. Introducir algoritmos pronósticos que incluyen biomarcadores (ST2 y REG3 α) validados por el consorcio internacional MAGIC de la EICRa, con el fin de mejorar la identificación del riesgo, la respuesta al tratamiento, y la MRT asociada. El uso de los biomarcadores permite una estratificación más precisa de los pacientes, pudiendo identificar inclusive a un grupo de pacientes catalogados como “lentos” respondedores, lo que a su vez facilita la personalización del tratamiento al ajustarlo según la gravedad de la EICR y la respuesta individual de cada paciente. Por tanto, la implementación de los biomarcadores en la práctica clínica permitirá una mejor toma de decisiones, optimizando los resultados terapéuticos al ofrecer una atención altamente personalizada.

- b. Estandarización de la monitorización de niveles de ruxolitinib, no disponible hasta la fecha, y estudio de polimorfismos genéticos e influencias epigenéticas con el fin de identificar a aquellos pacientes que no absorben bien el fármaco o su actividad está inhibida por variantes funcionales en los genes implicados en su metabolismo (CYP3A4 o CYP2C9), afectando a los niveles séricos y por tanto a su efectividad y toxicidad.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Morrison M, Samwick AA. Intramedullary (sternal) transfusion of human bone marrow. *JAMA* 1940; 115: 1708-1711.
2. Jacobson LO, Simmons EL, Marks EK, et al. The role of the spleen in radiation injury and recovery. *J Lab Clin Med.* 1949;35:746-770.
3. Barnes DW, Loutit JF. Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. *Br J Haematol.* 1957; 3: 241-252.
4. Thomas ED, Lochte HL, Cannon JH, et al. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 1959; 38: 1709-1716.
5. Soullillou J-P. An Interview with Jean Dausset. *Am J Transplant* 2004;4(1):4–7.
6. McCreddie KB, Hersh EM, Freireich EJ. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science* 1971; 171: 293-4.
7. Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, et al. Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science.* 1999 Jul 16;285(5426):412-5.
8. Barnes DW, Loutit JF. Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. *Br J Haematol.* 1957; 3: 241-252.
9. Gooley TA, Chien JW, Pergam Sa. Reduced mortality after allogeneic cell transplantation. *N Engl J Med.* 2010; 363:2091-101.
10. Vogelsang GB, Hess AD. Graft-versus-host disease: new directions for a persistent problem. *Blood* 1994; 84: 2061-2067.
11. Filipovich AH, Weisdorf D, Socie G, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005 Dec;11(12):945-56.
12. Wolf D, Schleuning M, von Harsdorf S et al. Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic GVHD: Second-Line Treatment of Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011 Jan;17(1):1-17.
13. Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* 1966-1967; 62: 21-78.
14. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009; 373 (9674): 1550-1561.
15. Nestel FP, Price KS, Seemayer TA, et al. Macrophage priming and lipopolysaccharide triggered release of tumor necrosis factor-alpha during graft-versus-host disease. *J Exp Med.* 1992; 175 (2): 405-413.

16. Hill GR, Ferrara JL. The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 2000; 95 (9): 2754-2759.
17. Briones J, Novelli S, Sierra J. T-Cell Costimulatory Molecules in Acute-Graft-Versus Host Disease: Therapeutic Implications. *EURASIP Journal on Bone Marrow Research*. Volume 2011, Article ID 976793.
18. Wysocki CA, Panoskaltis-Mortari A, Blazar BR et al. Leukocyte migration and graft-versus-host-disease. *Blood*. 2005;105(11):4191-4199.
19. Petersdorf EW, Longton GM, Anasetti C, et al. The significance of HLA-DRB1 matching on clinical outcome after HLA-A, B, DR identical unrelated donor marrow transplantation. *Blood*;1995;86:1606–1613.
20. Jagasia M, Arora M, Flowers ME, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2012 Jan 5;119(1):296-307.
21. Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy. *N Engl J Med*. 2017 Nov 30;377(22):2167-2179.
22. Lee C, Haneuse S, Wang HL, et al. Prediction of absolute risk of acute graft-versus-host disease following hematopoietic cell transplantation. *PLoS One*. 2018 Jan 18;13(1):e0190610.
23. Chien JW, Zhang XC, Fan W et al. Evaluation of published single nucleotide polymorphisms associated with acute GVHD. *Blood*. 2012 May 31;119(22):5311-9.
24. Wetzel L, Wittig S, Gruhn B. Association of recipient and donor interleukin 6 polymorphisms 174 and 597 with outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2022 Jan;148(1):255-265.
25. Martin PJ, Schoch G, Fisher L, et al. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood* 1990;76:1464–1472.
26. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974; 18: 295-304.
27. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP et al. IBMTR severity index for grading acute graft versus host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol*, 1997; 97: 855-64.

28. Harris AC, Young R, Devine S, et al. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jan;22(1):4-10.
29. MacMillan ML, DeFor TE, Holtan SG, et al. Validation of Minnesota acute graft-versus-host disease Risk Score. *Haematologica*. 2020 Jan 31;105(2):519-524.
30. Levine JE, Braun TM, Harris AC, et al. A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers: a multicentre study. *Lancet Haematol*. 2015 Jan;2(1):e21-9.
31. Srinagesh HK, Özbek U, Kapoor U, et al. The MAGIC algorithm probability is a validated response biomarker of treatment of acute graft-versus-host disease. *Blood Adv*. 2019 Dec 10;3(23):4034-4042.
32. Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. *Nat Rev Immunol*. 2012 May 11;12(6):443-58.
33. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(3):389–401.
34. Kitko CL, Pidala J, Schoemans HM, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: IIa. The 2020 Clinical Implementation and Early Diagnosis Working Group Report. *Transplant Cell Ther*. 2021 Jul;27(7):545-557.
35. Penack O, Peczynski C, Mohty M, et al. How much has allogeneic stem cell transplant-related mortality improved since the 1980s? A retrospective analysis from the EBMT. *Blood Adv*. 2020 Dec 22;4(24):6283-6290.
36. DeFilipp Z, Alousi AM, Pidala JA, et al. Nonrelapse mortality among patients diagnosed with chronic GVHD: an updated analysis from the Chronic GVHD Consortium. *Blood Adv*. 2021 Oct 26;5(20):4278-4284.
37. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med*. 1986 Mar 20;314(12):729-35.

38. Quellmann S, Schwarzer G, Hübel K, et al. Corticosteroids for preventing graft-versus-host disease after allogeneic myeloablative stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jul 16;(3):CD004885.
39. Ratanatharathorn V, Nash RA, Przepiorka D, et al. Phase III study comparing methotrexate and tacrolimus (prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* 1998;92:2303–2314.
40. Nash RA, Antin JH, Karanes C et al. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood* 2000; 96: 2062–2068.
41. Ram R, Gafter-Gvili A, Yeshurun M et al. Prophylaxis regimens for GVHD: systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43: 643–653.
42. Kharfan-Dabaja M, Mhaskar R, Reljic T et al. Mycophenolate mofetil versus methotrexate for prevention of graft-versus-host disease in people receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jul 25;7:CD010280.
43. Piñana JL, Martino R, Valcárcel D, et al. Study of Kidney Function Impairment after Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Hematopoietic StemCell Transplantation. A Single-Center Experience. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009; 15: 21-29.
44. Perez-Simón JA, Martino R, Parody R et al. The combination of sirolimus plus tacrolimus improves outcome after reduced-intensity conditioning, unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation compared with cyclosporine plus mycophenolate. *Haematologica*. 2013 Apr;98(4):526-32.
45. Urbano-Ispizua A, Rozman C, Martínez C et al. Rapid engraftment without significant graft-versus-host disease after allogeneic transplantation of CD34+ selected cells from peripheral blood. *Blood* 1997; 89: 3967-3973.
46. Kim HJ, Min WS, Cho BS, et al. Successful prevention of acute graft-versus-host disease using low-dose antithymocyte globulin after mismatched, unrelated, hematopoietic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Jun;15(6):704-17.

47. Theurich S, Fischmann H, Shimabukuro-Vornhagen A et al. Polyclonal anti-thymocyte globulins for the prophylaxis of graft-versus-host disease after allogeneic stem cell or bone marrow transplantation in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Sep 12;9:CD009159.
48. Kröger N, Solano C, Wolschke C et al. Antilymphocyte Globulin for prevention of Chronic graft versus host disease. *NEJM* 2016; 374: 43-53.
49. Passweg JR, Baldomero H, Bader P et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant*. 2016 Jun;51(6):786-92.
50. Berenbaum MC, Brown IN. Prolongation of homograft survival in mice with single doses of cyclophosphamide. *Nature* 1963;200:84.
51. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant* 2008;14(6):641–50.
52. Luznik L, Jalla S, Engstrom LW, et al. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide. *Blood* 2001;98(12):3456–64.
53. Luznik L, Engstrom LW, Iannone R, et al. Posttransplantation cyclophosphamide facilitates engraftment of major histocompatibility complex-identical allogeneic marrow in mice conditioned with low-dose total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant* 2002;8(3):131–8.
54. Al-Homsi AS, Cole K, Bogema M et al. Short Course of Post-Transplantation Cyclophosphamide and Bortezomib for Graft-versus-Host Disease Prevention after Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation Is Feasible and Yields Favorable Results: A Phase I Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Jul;21(7):1315-20.
55. Luznik L, O'Donnell PV, Fuchs EJ. Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol*. 2012 Dec;39(6):683-93.
56. McCurdy SR, Luznik L. How we perform haploidentical stem cell transplantation with posttransplant cyclophosphamide. *Blood*. 2019 Nov 21;134(21):1802-1810.

57. Luznik L, Bolaños-Meade J, Zahurak M, et al. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease. *Blood*. 2010 Apr 22;115(16):3224-30.
58. Kanakry CG, O'Donnell PV, Furlong T, et al. Multi-institutional study of post-transplantation cyclophosphamide as single-agent graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation using myeloablative busulfan and fludarabine conditioning. *J Clin Oncol*. 2014.
59. Mielcarek M, Furlong T, O'Donnell PV, et al. Posttransplantation cyclophosphamide for prevention of graft-versus-host disease after HLA-matched mobilized blood cell transplantation. *Blood*. 2016 Mar 17;127(11):1502-8.
60. McCurdy SR, Kasamon YL, Kanakry CG, et al. Comparable composite endpoints after HLA-matched and HLA-haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Haematologica*. 2017 Feb;102(2):391-400.
61. Ruggeri A, Labopin M, Bacigalupo A, et al. Post-transplant cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in HLA matched sibling or matched unrelated donor transplant for patients with acute leukemia, on behalf of ALWP-EBMT. *J Hematol Oncol*. 2018 Mar 15;11(1):40.
62. Williams L, Cirrone F, Cole K, et al. Post-transplantation Cyclophosphamide: From HLA-Haploidentical to Matched-Related and Matched-Unrelated Donor Blood and Marrow Transplantation. *Front Immunol*. 2020 Apr 9;11:636.
63. Kasamon YL, Ambinder RF, Fuchs EJ, et al. Prospective study of nonmyeloablative, HLA-mismatched unrelated BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide. *Blood Adv*. 2017;1(4):288-292.
64. Bolaños-Meade J, Hamadani M, Wu J, et al. Post-Transplantation Cyclophosphamide-Based Graft-versus-Host Disease Prophylaxis. *N Engl J Med*. 2023 Jun 22;388(25):2338-2348.
65. Bolaños-Meade J, Fuchs EJ, Luznik L, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation with posttransplant cyclophosphamide expands the donor pool for patients with sickle cell disease. *Blood*. 2012 Nov 22;120(22):4285-91.
66. DeZern AE, Zahurak ML, Symons HJ, et al. Haploidentical BMT for severe aplastic anemia with intensive GVHD prophylaxis including posttransplant cyclophosphamide. *Blood Adv*. 2020 Apr 28;4(8):1770-1779.

67. Sugita J, Kamimura T, Ishikawa T, et al. Reduced dose of posttransplant cyclophosphamide in HLA-haploidentical peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2021 Mar;56(3):596-604.
68. McAdams MJ, Hyder M, Dimitrova D, et al. Phase I/II Study of Reduced Dosing of Post-Transplantation Cyclophosphamide (PTCy) after HLA-Haploidentical Bone Marrow Transplantation. *Blood*. Volume 138, Supplement 1, 23 November 2021, Page 101.
69. Duléry R, Goudet C, Mannina D, et al. Reduced post-transplant cyclophosphamide doses in haploidentical hematopoietic cell transplantation for elderly patients with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2022 Dec 30.
70. Duléry R, Mohty R, Labopin M, et al. Early Cardiac Toxicity Associated With Post-Transplant Cyclophosphamide in Allogeneic Stem Cell Transplantation. *JACC CardioOncol*. 2021 Jun 15;3(2):250-259.
71. Yeh J, Whited L, Saliba RM, et al. Cardiac toxicity after matched allogeneic hematopoietic cell transplant in the posttransplant cyclophosphamide era. *Blood Adv*. 2021 Dec 28;5(24):5599-5607.
72. Watkins B, Williams KM. Controversies and expectations for the prevention of GVHD: A biological and clinical perspective. *Front Immunol*. 2022 Nov 23;13:1057694.
73. Watkins B, Qayed M, McCracken C, et al. Phase II Trial of Costimulation Blockade With Abatacept for Prevention of Acute GVHD. *J Clin Oncol*. 2021 Jun 10;39(17):1865-1877.
74. Rimando J, McCurdy SR, Luznik L. How I prevent GVHD in high-risk patients: posttransplant cyclophosphamide and beyond. *Blood*. 2023 Jan 5;141(1):49-59.
75. Al-Homsi AS, Cirrone F, Wo S, et al. PTCy, Abatacept, and Short Course of Tacrolimus for GvHD Prevention Following Haploidentical Transplantation. *Blood Adv*. 2023 May 10:bloodadvances.2023010545.
76. Armand P, Gannamaneni S, Kim HT, et al. Improved survival in lymphoma patients receiving sirolimus for graftversus-host disease prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *J Clin Oncol* 2008; 26:5767–5774
77. Parody R, López-Corral L, Lopez-Godino O, et al. GvHD prophylaxis with tacrolimus plus sirolimus after reduced intensity conditioning allogeneic

- transplantation: results of a multicenter study. *Bone Marrow Transplant*. 2016 Nov;51(11):1524-1526.
78. Wolff D, von Lilienfeld-Toal M, Wolf AM, et al. Novel treatment concepts for graft-versus-host disease. *Blood*. 2012; 119(1):16-25.
 79. Penack O, Marchetti M, Ruutu T, et al. Prophylaxis and management of graft versus host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet Haematol*. 2020;7(2):e157–67.
 80. Van Lint MT, Milone G, Leotta S, et al. Treatment of acute graft-versus-host disease with prednisolone: significant survival advantage for day +5 responders and no advantage for nonresponders receiving anti-thymocyte globulin. *Blood*. 2006;107:4177–4181.
 81. Bolaños-Meade J, Logan BR, Alousi AM, et al. Phase 3 clinical trial of steroids/mycophenolate mofetil vs steroids/placebo as therapy for acute GVHD: BMT CTN 0802. *Blood*. 2014;124(22):3221–7.
 82. Ibrahim RB, Abidi MH, Cronin SM, et al. Nonabsorbable corticosteroids use in the treatment of gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transpl*. 2009;15(4):395–405.
 83. Zeiser R, Socié G, Schroeder MA, et al. Efficacy and safety of itacitinib versus placebo in combination with corticosteroids for initial treatment of acute graft-versus-host disease (GRAVITAS-301): a randomised, multicentre, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Haematol*. 2022 Jan;9(1):e14-e25.
 84. Pidala J, Hamadani M, Dawson P, et al. Randomized multicenter trial of sirolimus vs prednisone as initial therapy for standard-risk acute GVHD: the BMT CTN 1501 trial. *Blood*. 2020;135(2):97–107.
 85. Schoemans HM, Lee SJ, Ferrara JL, et al. EBMT-NIH-CIBMTR Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Nov;53(11):1401-1415.
 86. El Jurdi N, Rayes A, MacMillan ML, Holtan SG, DeFor TE, Witte J, Arora M, Young JA, Weisdorf DJ. Steroid-dependent acute GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation: risk factors and clinical outcomes. *Blood Adv*. 2021 Mar 9;5(5):1352-1359.
 87. Herzog S, Weisdorf DJ, Shanley R, Rayes A, Holtan SG, Young JA, MacMillan ML, El Jurdi N. Chronic GVHD after steroid-sensitive, -dependent, and -

- refractory acute GVHD: incidence and clinical outcomes. *Blood Adv.* 2023 Apr 10;bloodadvances.2022009505.
88. Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, et al. First and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18:1150–1163.
 89. Bacigalupo A, Deeg H J, Caballero D, et al. Treatment of patients with steroid refractory acute graft vs host disease (SR-GVHD): a matched paired analysis of anti-CD26 (beigomab) compared to other treatment. *Blood.* 2016;128:671.
 90. Wolff D, Schleuning M, von Harsdorf S, et al. Consensus conference on clinical practice in chronic GVHD: second-line treatment of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17:1–17.
 91. Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, et al. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia.* 2015;29:2062–2068.
 92. Jagasia M, Perales MA, Schroeder MA, et al. Ruxolitinib for the treatment of steroid-refractory acute GVHD (REACH1): a multicenter, open-label, phase 2 trial. *Blood.* 2020;135:1739–1749.
 93. Zeiser R, von Bubnoff N, Butler J, REACH2 Trial Group. Ruxolitinib for glucocorticoid-refractory acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med.* 2020;382:1800–1810.
 94. Mohty M, Holler E, Jagasia M, Jenq R, Malard F, Martin P, Socié G, Zeiser R. Refractory acute graft-versus-host disease: a new working definition beyond corticosteroid refractoriness. *Blood.* 2020 Oct 22;136(17):1903-1906.
 95. Dou L, Peng B, Li X, et al. Ruxolitinib-corticosteroid as first-line therapy for newly diagnosed high-risk acute graft versus host disease: study protocol for a multicenter, randomized, phase II controlled trial. *Trials.* 2022 Jun 6;23(1):470.
 96. Song Q, Nasri U, Zeng D. Steroid-Refractory Gut Graft-Versus-Host Disease: What We Have Learned From Basic Immunology and Experimental Mouse Model. *Front Immunol.* 2022 Feb 18;13:844271.
 97. Ponce DM, Alousi AM, Nakamura R, et al. A phase 2 study of interleukin-22 and systemic corticosteroids as initial treatment for acute GVHD of the lower GI tract. *Blood.* 2023 Mar 23;141(12):1389-1401.

98. Rafei H, Jenq RR. Microbiome-intestine cross talk during acute graft-versus-host disease. *Blood*. 2020 Jul 23;136(4):401-409.
99. Malard F, Loschi M, Cluzeau T, et al. Pooled Allogenic Fecal Microbiotherapy MaaT013 for the Treatment of Steroid-Refractory Gastrointestinal Acute Graft-Versus-Host Disease: Results from the Phase IIa Heracles Study and Expanded Access Program. *Blood* 2021; 138 (Supplement 1): 262.
100. Pavletic SZ, Schultz KR. Durable discontinuation of systemic therapy for chronic graft-versus-host disease: myth or reality? *Haematologica*. 2023 Feb 1;108(2):303-305.
101. Flowers ME, Martin PJ. How we treat chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2015 Jan 22;125(4):606-15.
102. Arora M, Wagner JE, Davies SM, et al. Randomized clinical trial of thalidomide, cyclosporine, and prednisone versus cyclosporine and prednisone as initial therapy for chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transpl*. 2001;7(5):265–73.
103. Martin PJ, Storer BE, Rowley SD, et al. Evaluation of mycophenolate mofetil for initial treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2009 May 21;113(21):5074-82.
104. Miklos DB, Abu Zaid M, Cooney JP, et al. Ibrutinib for First-Line Treatment of Chronic Graft-Versus-Host Disease: Results From the Randomized Phase III iNTEGRATE Study. *J Clin Oncol*. 2023 Apr 1;41(10):1876-1887.
105. Inamoto Y, Storer BE, Lee SJ, et al. Failure-free survival after second-line systemic treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2013 Mar 21;121(12):2340-6.
106. Lee SJ, Nguyen TD, Onstad L, et al. Success of Immunosuppressive Treatments in Patients with Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transpl*. 2018;24(3):555–62.
107. Martin PJ, Inamoto Y, Carpenter PA, et al. Treatment of chronic graft-versus-host disease: Past, present and future. *Korean J Hematol*. 2011 Sep;46(3):153-63.
108. Zeiser R. Novel Approaches to the Treatment of Chronic Graft-Versus-Host Disease. *J Clin Oncol*. 2023 Apr 1;41(10):1820-1824.
109. Miklos D, Cutler CS, Arora M, et al. Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy. *Blood*. 2017 Nov 23;130(21):2243-2250.

110. Cutler C, Lee SJ, Arai S, et al. Belumosudil for chronic graft-versus-host disease after 2 or more prior lines of therapy: the ROCKstar Study. *Blood*. 2021 Dec 2;138(22):2278-2289.
111. Zeiser R, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib (RUX) vs best available therapy (BAT) in patients with steroid-refractory/steroid-dependent chronic graft-vs-host disease (CGVHD): primary findings from the phase 3, randomized REACH3 study. *Blood*. 2020;136(suppl 1):22–24.
112. Locatelli F, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib vs best available therapy in patients with steroid-refractory/dependent chronic graft-vs-host disease (CGVHD): subgroup analyses of overall response rate in the phase 3 REACH3 trial. *56*, 202174–76.
113. Zeiser R, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib for glucocorticoid-refractory chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2021;385:228–238.
114. Zeiser R, Lee SJ. Three US Food and Drug Administration-approved therapies for chronic GVHD. *Blood*. 2022 Mar 17;139(11):1642-1645.
115. Bidgoli A, DePriest BP, Saatloo MV, Jiang H, Fu D, Paczesny S. Current Definitions and Clinical Implications of Biomarkers in Graft-versus-Host Disease. *Transplant Cell Ther*. 2022 Oct;28(10):657-666.
116. Hill GR, Betts BC, Tkachev V, et al. Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology. *Annu Rev Immunol*. 2021 Apr 26;39:19-49.
117. Koshy AG, Kim HT, Liegel J, et al. Phase II clinical trial evaluating Abatacept in patients with steroid-refractory chronic graft versus host disease. *Blood*. 2023 Mar 2;blood.2022019107.
118. García-Cadenas I, Valcárcel D, Martino R, et al. Updated experience with inolimomab as treatment for corticosteroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Mar;19(3):435-9.
119. Ma CKK, García-Cadenas I, Fox ML, et al. Poor prognosis in patients with steroid refractory acute graft versus host disease treated with etanercept: a multi-centre analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Nov;53(11):1478-1482.
120. Cordonnier C, Maury S, Ribaud P, et al. A grading system based on severity of infection to predict mortality in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transplantation*. 2006 Jul 15;82(1):86-92.
121. Bashey A, Zhang X, Jackson K, et al. Comparison of outcomes of hematopoietic cell transplants from T-replete haploidentical donors using posttransplantation

- cyclophosphamide with 10 of 10 HLA-A, -B, -C, -DRB1, and -DQB1 allele-matched unrelated donors and HLA-identical sibling donors: a multivariable analysis including disease risk index. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(1):125-133.
122. Rashidi A, Hamadani M, Zhang MJ, et al. Outcomes of haploidentical vs matched sibling transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. *Blood Adv.* 2019;3(12):1826-1836.
 123. Elmariah H, Kasamon YL, Zahurak M, et al. Haploidentical bone marrow transplantation with post-transplant cyclophosphamide using non-first-degree related donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018;24(5): 1099-1102.
 124. Bornhäuser M, Kienast J, Trenschele R, et al. Reduced-intensity conditioning versus standard conditioning before allogeneic haemopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission: a prospective, open-label randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(10):1035-1044.
 125. Scott BL, Pasquini MC, Fei M, et al. Myeloablative versus reduced-intensity conditioning for hematopoietic cell transplantation in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes-long-term follow-up of the BMT CTN 0901 clinical trial. *Transplant Cell Ther.* 2021;27(6): 483.e1-483.e6.
 126. Bento L, Bastida JM, García-Cadenas I, et al. Thrombopoietin receptor agonists for severe thrombocytopenia after allogeneic stem cell transplantation: experience of the Spanish group of hematopoietic stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(9):1825-1831.
 127. Spyridonidis A, Labopin M, Savani BB, et al. Retrospective comparison between 12-gray and 8-gray Total body irradiation (TBI) before allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute lymphoblastic leukemia in first complete remission. *Blood.* 2021;138- (Supplement 1):1783.
 128. Ballen KK, Shrestha S, Sobocinski KA, et al. Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010 Mar;16(3):358-67.
 129. Kanate AS, Majhail NS, Savani BN, et al. Indications for Hematopoietic Cell Transplantation and Immune Effector Cell Therapy: Guidelines from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020 Jul;26(7):1247-1256.

130. Harrison CN, Schaap N, Mesa RA. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure. *Ann Hematol.* 2020 Jun;99(6):1177-1191.
131. Ali H, Bacigalupo A. 2021 Update on allogeneic hematopoietic stem cell transplant for myelofibrosis: A review of current data and applications on risk stratification and management. *Am J Hematol.* 2021 Nov 1;96(11):1532-1538.
132. McLornan D, Szydlo R, Koster L, et al. Myeloablative and Reduced-Intensity Conditioned Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Myelofibrosis: A Retrospective Study by the Chronic Malignancies Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019 Nov;25(11):2167-2171.
133. Battipaglia G, Mauff K, Wendel L, et al. Thiotepa-busulfan-fludarabine (TBF) conditioning regimen in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis: an outcome analysis from the Chronic Malignancies Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2021 Jul;56(7):1593-1602.
134. Salit RB, Scott BL, Stevens EA, et al. Pre-hematopoietic cell transplant Ruxolitinib in patients with primary and secondary myelofibrosis. *Bone Marrow Transplant.* 2020 Jan;55(1):70-76. –
135. Hernández-Boluda JC, Pereira A, Kröger N, et al. Determinants of survival in myelofibrosis patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leukemia.* 2021 Jan;35(1):215-224.
136. Gowin K, Ballen K, Ahn KW, et al. Survival following allogeneic transplant in patients with myelofibrosis. *Blood Adv.* 2020 May 12;4(9):1965-1973.
137. Soltermann Y, Heim D, Medinger M, et al. Reduced dose of post-transplantation cyclophosphamide compared to ATG for graft-versus-host disease prophylaxis in recipients of mismatched unrelated donor hematopoietic cell transplantation: a single-center study. *Ann Hematol.* 2019 Jun;98(6):1485-1493.
138. Sun X, Yang J, Cai Y, et al. Low-dose antithymocyte globulin plus low-dose posttransplant cyclophosphamide combined with cyclosporine and mycophenolate mofetil for prevention of graft-versus-host disease after HLA-mismatched unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2021 Oct;56(10):2423-2431.

139. Ackula H, Medawar G, Cerio C, et al. De-Escalation of Ptcy Dosing in Matched Allogenic Transplants: A Single Institution Retrospective Study. *Blood*. 2021, 138 (Supplement 1): 4872.
140. Zu Y, Zhou J, Fu Y, et al. Feasibility of reduced-dose posttransplant cyclophosphamide and cotransplantation of peripheral blood stem cells and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for SAA. *Sci Rep*. 2021 Jan 8;11(1):253.
141. Zu Y, Gui R, Li Z, et al. Low-dose PTCy plus low-dose ATG as GVHD prophylaxis after UD-PBSCT for hematologic malignancies: a prospective, multicenter, randomized controlled trial. *Blood Cancer J*. 2023 Jan 11;13(1):10.
142. DeFilipp Z, Burns LJ, Jaglowski SM, et al. A New Standard in Graft-versus-Host Disease Prophylaxis? An Introduction to Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network 1703. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020 Dec;26(12): e305-e308.
143. Thakar MS, Bonfim C, Walters MC, et al. Dose-adapted post-transplant cyclophosphamide for HLAhaploidentical transplantation in Fanconi anemia. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Apr;52(4):570-573.
144. Ayas M, Siddiqui K, Al-Jefri A, et al. Successful Outcome in Patients with Fanconi Anemia Undergoing T Cell-Replete Mismatched Related Donor Hematopoietic Cell Transplantation Using Reduced-Dose Cyclophosphamide Post-Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019 Nov;25(11):2217-2221.
145. Robin M, Porcher R, Wolschke C, et al. Outcome after Transplantation According to Reduced-Intensity Conditioning Regimen in Patients Undergoing Transplantation for Myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jul;22(7):1206-1211.
146. Salit RB, Scott BL, Stevens EA, et al. Pre-hematopoietic cell transplant Ruxolitinib in patients with primary and secondary myelofibrosis. *Bone Marrow Transplant*. 2020 Jan;55(1):70-76.
147. Escamilla Gomez V, García-Gutiérrez V, Lopez Corral L, et al. Ruxolitinib in refractory acute and chronic graft-versus-host disease: a multicenter survey study. *Bone Marrow Transplant*. 2020; 55:641–648.

148. Szer J, Butler J, Forcade E, et al. Efficacy and safety of ruxolitinib in patients with steroid-refractory acute graft-vs-host disease after crossover in the phase 3 REACH2 study. EHA Library. 2021 324644. S236.
149. Bergeron A, Cheng GS. Bronchiolitis obliterans syndrome and other late pulmonary complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Chest Med.* 2017; 38:607–621.
150. Moiseev IS, Morozova EV, Bykova TA, et al. Long-term outcomes of ruxolitinib therapy in steroid-refractory graft-versus-host disease in children and adults. *Bone Marrow Transplant.* 2020; 55:1379–1387.
151. Dietrich S, Falk CS, Benner A, et al. Endothelial vulnerability and endothelial damage are associated with risk of graft-versus-host disease and response to steroid treatment. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19:22– 27.
152. El Jurdi N, Elhousseini H, Beckman J, et al. High incidence of thromboembolism in patients with chronic GVHD: association with severity of GVHD and donor-recipient ABO blood group. *Blood Cancer J.* 2021; 11:96.
153. Venugopal S, Mascarenhas J. Novel therapeutics in myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol.* 2020; 13:162.
154. Heine A, Held SA, Daecke SN, et al. The JAK-inhibitor ruxolitinib impairs dendritic cell function in vitro and in vivo. *Blood.* 2013; 122:1192–1202.
155. Abedin S, McKenna E, Chhabra S, et al. Efficacy, toxicity, and infectious complications in ruxolitinib-treated patients with corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 25:1689–1694.
156. Khoury HJ, Langston AA, Kota VK, et al. Ruxolitinib: a steroid-sparing agent in chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2018; 53:826–831.
157. De Kort EA, van Dorp S, Blijlevens NM, van der Velden JF. Corticosteroid replacement by ruxolitinib in patients with acute GVHD experiencing severe steroid-induced side effects. *Bone Marrow Transplant.* 2020; 55:253–255.
158. Mori Y, Ikeda K, Inomata T, et al. Ruxolitinib treatment for GVHD in patients with myelofibrosis. *Bone Marrow Transplant.* 2016; 51:1584– 1587.

10. ANEXOS

Como anexo a los resultados del trabajo de investigación que conforma esta tesis, se ha publicado el siguiente artículo original:

10.1 Artículo 3:

Redondo S, García-Cadenas I, Vila A, Esquirol A, Portos JM, Novelli S, Saavedra S, Moreno C, Garrido A, Arguello-Tomas M, Oñate G, López-Pardo J, Caballero AC, Miqueleiz S, Briones J, Sierra J, Sancho G, Martino R. Sequence matters: Total body irradiation (TBI)-based myeloablative conditioning with post-transplant cyclophosphamide may reduce the early nonrelapse mortality compared with pretransplant cyclophosphamide plus TBI. *Eur J Haematol.* 2023 Jul;111(1):146-153. doi: 10.1111/ejh.13978.



Sequence matters: Total body irradiation (TBI)-based myeloablative conditioning with post-transplant cyclophosphamide may reduce the early nonrelapse mortality compared with pretransplant cyclophosphamide plus TBI

Sara Redondo¹ | Irene García-Cadenas¹ | Antonio Vila² | Albert Esquirol¹ | J. M. Portos¹ | Silvana Novelli¹ | Silvana Saavedra¹ | Carol Moreno¹ | Ana Garrido¹ | Miguel Arguello-Tomas¹ | Guadalupe Oñate¹ | Jordi López-Pardo¹ | Ana-Carolina Caballero¹ | Sara Miqueleiz¹ | Javier Briones¹ | Jorge Sierra¹ | Gemma Sancho² | Rodrigo Martino¹

¹Hematology Department, Hospital de la Sant Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau and José Carreras Leukemia Research Institutes, Departamento de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain

²Radiotherapy Oncology Department, Hospital de la Sant Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

Correspondence

Sara Redondo, Servei d'Hematologia Clínica Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Carrer Mas Casanovas 9008041, Barcelona (ES), Spain.
Email: sredondov@santpau.cat

Funding information

Fundació la Marató de TV3; Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y competitividad, Grant/Award Numbers: Tercele RD16/0011/0028, AGAUR 2017 SGR 865, FIS PI17/01246, La Marató 517C/20190318/1330

Abstract

Objectives: High-dose total body irradiation (TBI) is considered a cornerstone of myeloablative conditioning for allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). We retrospectively compared the main outcomes of an HLA matched or 1-allele mismatched related or unrelated allo-SCT in adult patients affected by acute leukemia (AL) or myelodysplastic syndromes (MDS).

Methods: Fifty-nine patients received cyclophosphamide (Cy)-TBI (13.5 Gy) and graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis with a calcineurin-inhibitor plus methotrexate (CyTBI group) and 28 patients received fludarabine-TBI (8.8–13.5 Gy) and GVHD prophylaxis with PTCy and tacrolimus (FluTBI-PTCy group).

Results: Median follow-up for survivors was 82 and 22 months. The 12-month probability of overall survival and progression-free survival were similar ($p = .18$, $p = .7$). The incidence of Grades 2–4 and 3–4 acute GVHD, and the incidence of moderate-to-severe chronic GVHD were higher in the CyTBI group ($p = .02$, $p < .01$ and $p = .03$). Nonrelapse mortality (NRM) at 12 months posttransplant was higher in the CyTBI group ($p = 0.05$), while the incidence of relapse was similar in both groups ($p = 0.7$). The number of GVHD-free and relapse-free patients without systemic immunosuppression (GRFS) at 1-year posttransplant was higher in the FluTBI-PTCy group ($p = 0.01$).

Conclusions: The study confirms the safety and efficacy of a novel FluTBI-PTCy platform with reduced incidence of severe acute and chronic GVHD, and early improvement of NRM.

KEYWORDS

myeloablative conditioning, nonrelapse mortality, posttransplant cyclophosphamide, total body irradiation

Sara Redondo and Irene García-Cadenas contributed equally as the first authors to this work.



Novelty Statements

What is the new aspect of your work?

No studies have been published comparing cyclophosphamide plus total body irradiation (CyTBI) with TBI with posttransplant Cy (PTCy) platform for adults with high-risk acute leukemia and myelodysplastic syndromes allogeneic-stem cell transplantation with myeloablative conditioning.

What is the central finding of your work?

The central finding is an improvement in the 1-year main transplant outcomes after TBI-based conditioning switching from pretransplant Cy to PTCy.

What is (or could be) the specific clinical relevance of your work?

The clinical relevance is the safety and efficacy of a novel FluTBI-PTCy platform with a reduced incidence of severe acute and chronic graft-versus-host disease, and early improvement of non-relapse mortality.

1 | INTRODUCTION

The combination of cyclophosphamide (Cy) with ablative doses of total body irradiation (TBI) was the first myeloablative conditioning (MAC) regimen successfully used for allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT) in adult patients with high-risk acute leukemia (AL).¹

However, MAC platforms including high-dose TBI have been associated with high rates of acute graft-versus-host disease (GVHD) and nonrelapse mortality (NRM),^{2–4} restricting their use to patients <40 years of age or up to 55 years without comorbidities.

NRM in allo-SCT has progressively improved in the last decades due to advances in supportive care, especially in terms of opportunistic infection prevention and early treatment.^{5,6} In contrast, fewer advances have been seen in the management of GVHD, which remains the major cause of morbidity and NRM after transplant.^{7–9}

PTCy is a novel GVHD prophylactic strategy for GVHD first introduced in the haploidentical setting.¹⁰ Recent studies have demonstrated that allo-SCT including chemotherapy-based conditioning and PTCy GVHD prophylaxis results in similar survival, disease recurrence, and transplantation-related mortality and lower chronic GVHD compared with HLA-identical RIC transplantation with conventional GVHD prophylaxis.^{11–15} However, less is known regarding the impact of PTCy in patients receiving ablative TBI doses.¹⁶

Recently, fludarabine has replaced Cy as pretransplant immunosuppression in combination with both busulphan or TBI in the classical BuCy and CyTBI conditioning platforms.¹⁷ In a randomized comparison of TBI-based MAC, Bornhäuser et al.¹⁸ compared conventional CyTBI (12 Gy; i.e., fractionated TBI of 12 Gy and Cy) with fludarabine plus intermediate-dose TBI of 8 Gy (FluTBI [8 Gy]) in acute myeloid leukemia [AML] in first CR (CR1), with conventional GVHD prophylaxis in both groups. This study showed similar outcomes with both transplant strategies, which differed however by patient age. Thus, patients with AML aged 41–60 years treated in the FluTBI (8 Gy) arm achieved improved progression-free survival (PFS) and NRM at 1 and

5 years, while those <41 years old had better outcomes with CyTBI (12 Gy).¹⁹

Based on these premises, we devised a novel TBI-conditioning strategy in 2016, incorporating several changes to the previous uniform CyTBI platform. We changed pretransplant Cy for fludarabine, and assigned the total dose of TBI by patient age, maintaining 13.5 Gy in those <41 years old and using 8.8 Gy in those 41–55 years old, while incorporating PTCy as GVHD prophylaxis. Thus, high-dose Cy was switched from pretransplant immunosuppression/conditioning to PTCy for GVHD prophylaxis.

We herein compare the main transplant outcomes with the traditional CyTBI MAC transplantation platform with the newer FluTBI platforms followed by PTCy in a consecutive cohort of adults with high-risk AL and myelodysplastic syndromes (MDS).

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study population

Between January 2009 and December 2021, a total of 87 consecutive adult patients with poor-prognosis AL or MDS received an HLA identical or single-allele mismatched (considering HLA A, B, C, DRB1, and DQB1 loci) allo-SCT with ablative TBI-doses at the Division of Adult Clinical Hematology of a tertiary university hospital. Fifty-nine patients transplanted from 2009 to 2015 (68%) were treated with the classical CyTBI conditioning (120 mg/kg Cy plus 13.5 Gy TBI in 6 fractions) and received tacrolimus or cyclosporine and a short course of methotrexate (MTX) as GVHD prophylaxis, while from January 2016 to December 2021, 28 patients (32%) were included in our prospective single-center protocol¹² which incorporated FluTBI in combination with PTCy and tacrolimus as GVHD prophylaxis. Regarding TBI-based conditioning regimens, two dose intensities were used; 8.8 or 13.5 Gy, both combined with fludarabine, referred to as FluTBI(8.8).



PTCy and FluTBI(13.5).PTCy. Patients and donors gave written informed consent for use of their data for clinical research.

2.2 | Conditioning regimens and supportive care

Recipients of CyTBI were conditioned with Cy (60 mg/kg IV daily for 2 consecutive days on Days -6 and -5) plus TBI (hyperfractionated in 2 daily fractions for 3 days [-3, -2, and -1] for a total dose of 13.5 Gy) and received peripheral blood stem cell (PBSC) from the donor. GVHD prophylaxis consisted in a calcineurin inhibitor (tacrolimus or cyclosporine) from Day -1 plus short-course IV MTX (15 mg/m² on Day +1 and 10 mg/m² IV on Days +3 and +6), while antithymocyte globulin (Thymoglobulin[®], 2 mg/kg day on Days -3, -2, and -1, total dose 6 mg/kg) was added in the case of a single-allele mismatched donor considering high-resolution HLA typing of loci A, B, C, DRB1, and DQB1.²⁰

Recipients of FluTBI.PTCy were conditioned with fludarabine (120 mg/m² orally, or 90 mg/m² IV) plus TBI and received PBSC from the donor, with the exception of three patients who received bone marrow (BM). Two TBI dose intensities were used, hyperfractionated in 4 or 6 fractions over 2 or 3 days for a total dose of 8.8 or 13.5 Gy, while GVHD prophylaxis consisted in PTCy (IV Cy, 50 mg/kg/day on Days +3 and +4) plus single-agent tacrolimus.¹² In this latter cohort, the total dose of TBI was assigned by the patients' age and the underlying disease. Thus, a dose of 13.5 Gy was used in patients with AML/MDS < 41 years old or patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) < 46 y.o, whereas a dose of 8.8 Gy was used in patients with AML/MDS 41-55 years old or patients with ALL 46-55 years old.^{21,22} Patients over 55 years of age and younger patients with high pretransplant comorbidities received RIC regimens also containing PTCy.¹² Posttransplant growth factors were not routinely utilized.

Antibacterial prophylaxis with fluoroquinolones was started at the initiation of the conditioning regimen (unless prior infections by fluoroquinolone-resistant bacteria occurred) and until neutrophil recovery or the start of empirical/targeted antibiotic treatment. Antiviral prophylaxis consisted of low-dose acyclovir (400 mg twice daily intravenously or its equivalent oral doses). None of the cytomegalovirus (CMV) seropositive patients benefitted from letermovir prophylaxis. Antifungal prophylaxis with fluconazole was started at initiation of the conditioning regimen until hematopoietic recovery (unless secondary prophylaxis for prior aspergillosis was indicated), while broad spectrum antifungal prophylaxis was recommended in patients who required high-dose steroids for GVHD. Cotrimoxazole or pentamidine prophylaxis was administered until the CD4+ T-cell count rose above 200/mm³ for 6 consecutive months and patients were off immunosuppressive drugs. Twice weekly serum galactomannan was tested in patients not receiving anti-aspergillus pharmacoprophylaxis. Serial blood monitoring by quantitative PCR for CMV was initially performed twice a week, while EBV monitoring was routinely monitored only in patients who received ATG.²³

Acute GVHD was graded based on the 1995 Consensus Conference criteria²⁴ and chronic GVHD was based on the 2005 National Institute of Health (NIH) criteria.²⁵

2.3 | Chimerism analysis

After transplant, serial samples of unfractionated peripheral blood (PB) and BM mononuclear cells were analyzed after hematologic recovery (Days +21 to +60), on Days +90 to +100 and on Days +180 to +200, and then only in case of persistent prior mixed chimerism, or disease recurrence or suspicion of graft failure, for degrees of donor-recipient chimerism using PCR of informative minisatellite regions, while chimerism of selected T cells and granulocytes in PB were analyzed until stable 100% donor chimerism was achieved, as previously described in detail.²⁶

2.4 | Statistical analysis

Results were analyzed using SPSS statistical software version 26.0.01 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA), while the R statistical software was used for estimating cumulative incidence. Patient characteristics were compared among treatment groups by the Chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables and by the *t*-test or Wilcoxon test for variables measured on a continuous scale. The probabilities of overall survival (OS) and PFS were estimated using the Kaplan-Meier product-limit estimate, and univariate testing was done with Cox regression test. Variables with *p* < .2 in the univariate analysis were included in the multivariate analysis. The incidence of NRM and disease relapse or progression was calculated using cumulative incidence estimates, considering the competing risks. The incidence of GVHD was calculated considering NRM and relapse as competing risks. All outcomes were measured from the date of transplantation.

3 | RESULTS

3.1 | Study Population

Between January 2009 and December 2021, 87 consecutive adult patients with AL or MDS < 55 years old received an allo-SCT from an HLA matched or 1-allele mismatched related or unrelated donor. Fifty-nine were conditioned with CyTBI and 28 with FluTBI-PTCy. Patient, disease and transplant characteristics are shown in detail in Table 1.

Patients in the CyTBI group were younger (median 37 vs. 45 years), had a lower revised disease risk index at transplant and a lower HCT-CI/age. Other pretransplant variables were well balanced between groups. All but four cases received G-CSF mobilized PBSC, with a higher median dose of CD34+ cells infused in the CyTBI group.

3.2 | Early toxicity and engraftment

Early conditioning-related extrahematologic Grade 3-4 CTCAE toxicities, mainly gastrointestinal, occurred in 69% in the CyTBI group and 46% in the FluTBI-PTCy group, (*p* = .03). There were no cases of thrombotic microangiopathy or transplant-associated venoocclusive

	FluTBI-PTCy	CyTBI	<i>p</i>
Number of patients	28	59	
Age, median [range]	45 [24–55]	37 [18–52]	.01
Sex, male, <i>n</i> (%)	14 (50)	26 (44)	.60
Underlying disease			
Acute myeloid leukemia, <i>n</i> (%)	12 (43)	36 (61)	.07
Acute lymphoblastic leukemia, <i>n</i> (%)	15 (53.5)	17 (29)	
Myelodysplastic syndrome, <i>n</i> (%)	1 (3.5)	6 (10)	
Disease status previous PBSCT			
Complete response, <i>n</i> (%)	26 (93)	50 (85)	.71
Partial response, <i>n</i> (%)	1 (3.5)	3 (5)	
Active disease, <i>n</i> (%)	1 (3.5)	6 (10)	
Revised disease risk index (rDRI)			
High and very high rDRI, <i>n</i> (%)	12 (43)	19 (32)	.07
Hematopoietic cell transplantation–age comorbidity index (HCT-CI/age)			
≥ 3 HCT-CI/age, <i>n</i> (%)	9 (32)	8 (14)	.04
Source, peripheral blood, <i>n</i> (%)	25 (89)	58 (98)	.03
Donor type			
Related HLA identical, <i>n</i> (%)	10 (36)	27 (46)	.65
Unrelated identical, <i>n</i> (%)	13 (46)	24 (41)	
Unrelated mismatch, <i>n</i> (%)	5 (18)	8 (13)	
Patient male–donor female, <i>n</i> (%)	4 (14)	9 (15)	.88
TBI total dose, Gy			
13.5 Gy, <i>n</i> (%)	13 (46)	59 (100)	.01
8.8 Gy, <i>n</i> (%)	15 (54)	0 (0)	
CMV status –/–, <i>n</i> (%)	2 (7)	14 (24)	.05
CD34+ cells infused ($\times 10^6$ /kg), median [range]	5 [1.14–9]	6 [2.5–9.8]	.03

TABLE 1 Patient characteristics.

Note: FluTBI.PTCy, fludarabine (90 mg/m² IV) and TBI (hyperfractionated in 4 or 6 fractions to a total dose of 8.8 or 13.5 Gy), and GVHD prophylaxis consisted in PTCy (50 mg/kg on Days +3 and +4) plus single-agent tacrolimus; CyTBI, cyclophosphamide (120 mg/kg) plus total body irradiation or TBI (hyperfractionated to a total dose of 13.5 Gy), and GVHD prophylaxis with a calcineurin inhibitor plus short-course methotrexate, with antithymocyte globulin added 9/10 HLA-matched donors. Abbreviations: CMV, cytomegalovirus; GVHD, graft-versus-host disease; PBSCT, peripheral blood stem cell transplantation; PTCy, posttransplant cyclophosphamide; TBI, total body irradiation.

disease. Forty-two percent of patients in the CyTBI group showed a clinically significant CMV reactivation compared with 28% in the FluTBI-PTCy group ($p = .15$) without cases of CMV disease.

All patients had sustained donor-engraftment by Day +45, except for four patients in the FluTBI-PTCy group, of whom one died early due to central nervous system aspergillosis, and the other three (11%) had prolonged isolated thrombocytopenia, defined as persistent thrombocytopenia ($<20\,000$ /mL) with a normal cell count in the other hematopoietic lines or the need for platelet transfusion in the first 60 days after allo-HSCT. Patients receiving CyTBI achieved neutrophil and platelet engraftment earlier (14^{10–23} vs. 21 [11–32] days, [$p = .01$], and 14^{9–27} vs. 19 [12–220] days, respectively, [$p = 0.03$]). The proportion of patients who had complete donor chimerism in T cells at Days +60 was 93% in the CyTBI group and 96% in the FluTBI-PTCy group ($p = .48$).

The duration of the initial hospital admission was similar in both study groups (median 33 days (range 24–120) in the CyTBI and 31 days (range 24–50) in the FluTBI-PTCy group, ($p = .28$), and in the first year postdischarge 78% of patients required 1 or more readmissions in the CyTBI group and 36% in the FluTBI.PTCy cohort (median 2 [range: 0–5 readmissions] vs. 0 [range 0–2 readmissions]), respectively, $p = .01$), 47% due to infectious complications ($n = 25$) and 43% due to severe forms of GVHD ($n = 23$).

3.3 | Incidence and severity of GVHD

The Day +120 cumulative incidence of acute GVHD (aGVHD) Grades 2–4 and 3–4 was 37% (95% CI: 25%–50%) and 30.5% (95% CI: 19%–42%) for CyTBI and 14% (95% CI: 1%–27%) and 0% for FluTBI-PTCy



group, respectively ($p < .05$ for both comparisons). The cumulative incidence of moderate-to-severe cGVHD at 12 months was 37% (95% CI: 25%–49%) in the CyTBI and 14% (95% CI: 1%–27%) in the FluTBI-PTCy group, respectively ($p = .03$; Table 2).

3.4 | Main transplant outcomes

At data cutoff—July 2022, the median follow-up for survivors in the CyTBI and FluTBI-PTCy groups was 82 (range 10–151) and 22 months (range 6–43), respectively. The 12-month probability of OS and PFS was 76% (95% CI: 65%–87%) and 74% (95% CI: 63%–85%) in the CyTBI group and 85% (95% CI: 71%–99%) and 81% (95% CI: 67%–96%) in the FluTBI.PTCy cohorts, respectively, ($p = .18$, $p = .7$; Figure 1). The 1-year incidence of relapse was 11% in both groups. The 100-day and 12-month incidences of NRM were 7% (95% CI: 0.5%–13%) and 19% (95% CI: 9%–29%) in the CyTBI group and both were 3.5% (95% CI: 3%–10%) in the FluTBI-PTCy group, respectively, ($p = .05$; Figure 1). Causes of NRM in the CyTBI group included: aGVHD ($n = 9$, 15.5%) and invasive fungal infection (3.5% [$n = 2$]) while in the FluTBI.PTCy group there was only one death due to a pre-engraftment invasive fungal infection.

At 12 months posttransplant, the GVHD-free/relapse-free survival and without systemic immunosuppression (GRFS) was 15% in the CyTBI group and 50% in the FluTBI.PTCy group, respectively ($p = .01$).

In the univariate analysis, the only variable that was associated with increased NRM and decreased OS was Grade 3–4 aGVHD [HR 13.89 (95% CI 3.75–51.42); $p = .01$, and HR 3.5 (95% CI 1.5–8.5); $p < .01$, respectively]. By univariate Cox regression analysis, there was a trend towards a lower NRM at 12 months in the FluTBI-PTCy group (HR 0.18 [95% CI 0.02–1.2]; $p = 0.1$; Figure 1), due to a reduction of Grade 3–4 aGVHD-related mortality (HR 0.07 [95%CI 0.01–0.36]; $p < .01$). In the multivariate analysis, the variables that were

associated with increased NRM were Grade 3–4 aGVHD (as a time-dependent covariate) and female donor to male patient (HR 28.7 [95% CI 1.7–4.65]; $p = .02$ and HR 12.3 [95% CI 1.5–9.7]; $p < .01$, respectively).

4 | DISCUSSION

In 2016, when we decided to introduce major changes in our standard GVHD prophylaxis we incorporated PTCy as a standard of care practice outside the haploidentical setting, and we modified the high-dose TBI-based MAC transplantation platform for young adults with AL and MDS receiving cells from an HLA matched or 1-allele mismatched related or unrelated donor. We aimed to reduce the incidence of Grade 3–4 aGVHD and severe cGVHD to <10% each, without increasing early toxic mortality. In this study, we evaluated the impact of these changes on safety, tolerability, and major transplant outcomes.

Based on the pioneering work of Bornhäuser et al.¹⁸ who showed that FluTBI (8 Gy) was equivalent if not superior to CyTBI (12 Gy) for MAC allo-SCT recipients with AML in CR1, we retrospectively compared standard CyTBI (13.5 Gy) with FluTBI-PTCy with a total dose of TBI of 8.8 or 13.5 Gy, assigned mainly by patient age in order to reduce the known negative impact of age on transplant outcomes.

In our study, severe extrahematologic toxicity, mainly due to gastrointestinal causes, was higher in the CyTBI group (69% vs. 46%) than in the FluTBI-PTCy group. In contrast with prior reports, in which TBI-based MAC platforms were associated with increased endothelial injury syndromes, there were no cases of thrombotic microangiopathy or transplant-associated venoocclusive disease in either group.²⁷

Importantly, engraftment rates were similar between both groups, with no cases of primary or secondary graft failures. Delayed neutrophil engraftment (without G-CSF) and, especially, the three patients who showed prolonged thrombocytopenia posttransplant

TABLE 2 Transplant outcomes.

	FluTBI-PTCy, n (%)	CyTBI, n (%)	<i>p</i>
Grade 2–4 aGVHD	4 (14)	22 (37)	.02
Grade 3–4 aGVHD	0 (0)	18 (30.5)	.00
12-month moderate–severe cGVHD	4 (14)	22 (37)	.03
12-month mortality posttransplant	4 (14)	17 (29)	.11
GVHD +/- infections	1 (3.5)	11 (19)	.05
Other causes of nonrelapse mortality	0 (0)	2 (3)	
Disease relapse	3 (10.5)	4 (7)	.52

Note: FluTBI.PTCy, fludarabine (90 mg/m² IV) and TBI (hyperfractionated in 4 or 6 fractions to a total dose of 8.8 or 13.5 Gy), and GVHD prophylaxis consisted in PTCy (50 mg/kg on Days +3 and +4) plus single-agent tacrolimus; CyTBI, cyclophosphamide (120 mg/kg) plus total body irradiation or TBI (hyperfractionated to a total dose of 13.5 Gy), and GVHD prophylaxis with a calcineurin inhibitor plus short-course methotrexate, with antithymocyte globulin added 9/10 HLA-matched donors. Abbreviations: aGVHD, acute graft-versus-host disease; cGVHD, chronic graft-versus-host disease; PTCy, posttransplant cyclophosphamide; TBI, total body irradiation.

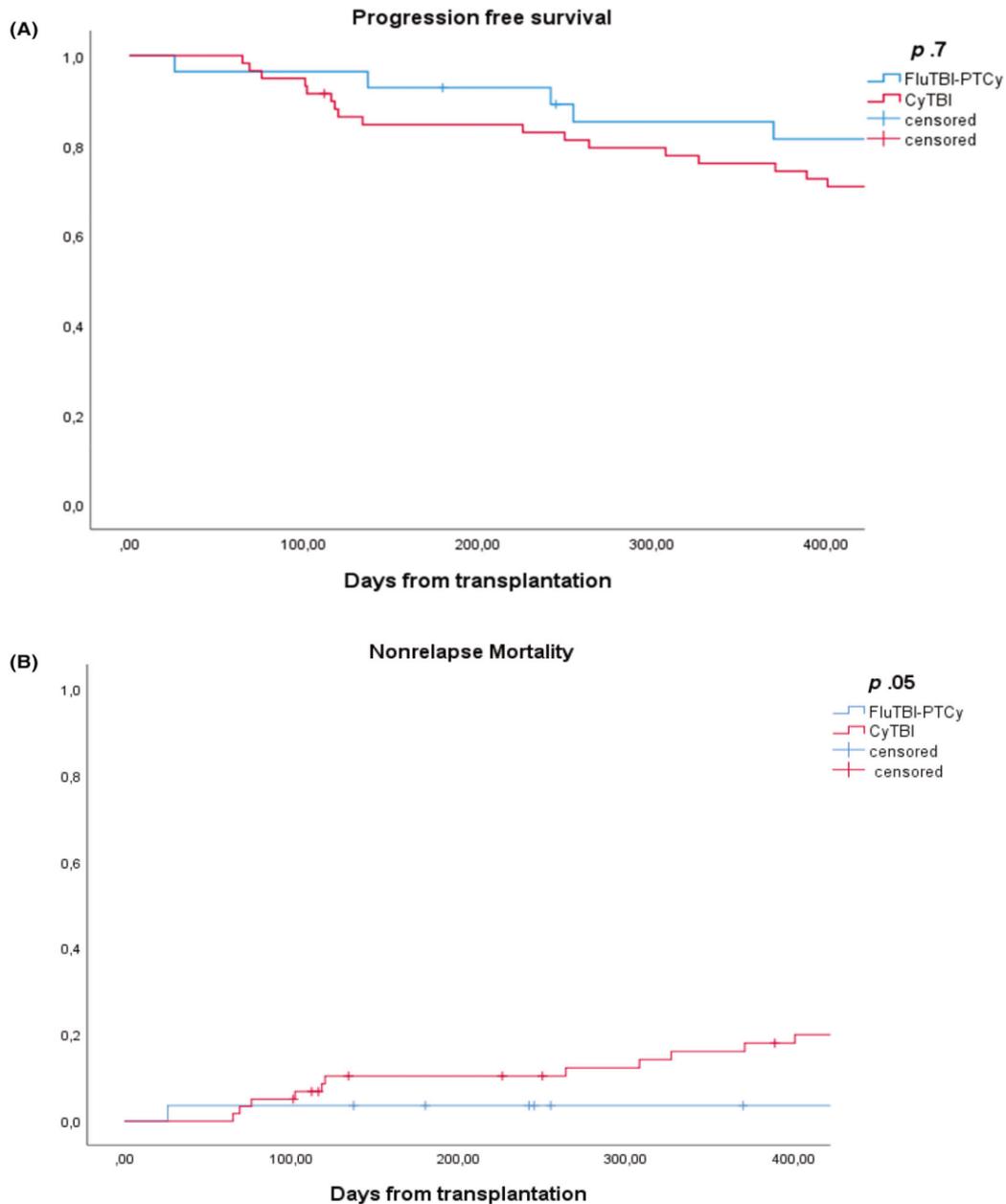


FIGURE 1 (A) 12-month probability of progression-free survival according to the conditioning regimen, (B) 12-month probability of Nonrelapse mortality according to the conditioning regimen.

in the FluTBI-PTCy cohorts is in line with current observations which emphasize the increase of primary poor graft function in patients receiving PTCy.²⁸

Since the first reports of Haplo-SCT using PTCy,¹⁰ encouraging results have been described in terms of both acute and severe GVHD reduction, independently of the donor type, that seems to compare favorably with classical GVHD prophylaxis with calcineurin inhibitors and MTX.^{13–16} In this study, the cumulative incidence of Grade 2–4

was substantially lower in FluTBI-PTCy group than in CyTBI group without cases of Grade 3–4 aGVHD in the FluTBI-PTCy group, leading to a reduction in the number of readmissions in this group of patients. In addition, despite higher median age and HCT-CI/age in the FluTBI-PTCy group, the incidence of NRM at 100 days and 12 months was significantly lower than in the CyTBI group, albeit without differences in 1-year survival. Since there is an obvious relationship between the occurrence of severe Grade 3–4 aGVHD and



early NRM, it is undeniable that the drastic reduction of this complication in the FluTBI-PTCy group is a major determinant in the reduction of early NRM observed.

A similar finding was noted regarding cGVHD, with a significantly lower incidence of moderate and severe forms at 12 months in the FluTBI-PTCy cohorts, leading to higher 1-year GRFS, an important surrogate indicator of improved quality of life in transplant survivors.¹¹⁻¹³

The major limitations of our study include (i) the small sample sizes and short follow-up; (ii) the heterogeneity of the underlying diseases (AML, ALL, and MDS), although our study in no way aims to analyse the impact on relapse of the novel FluTBI-PTCy platforms; (iii) the comparison of two consecutive patient cohorts transplanted over a period of more than 10 years. We are aware that all registry and single-center studies systematically show that NRM is reduced over time, making comparisons of patients transplanted over different time periods always questionable^{29,30}; and (iv), finally, the comparison of the new age-specific "TBI (8.8 or 13.5 Gy) + PTCy platforms" with the prior "one size fits all" CyTBI (13.5 Gy) protocol. Despite these caveats, our only objective was to reduce the early NRM in patients receiving MAC TBI conditioning by introducing PTCy as GVHD prophylaxis.

At least in our single-center experience, the strategy appears to have worked. Assigning the dose of TBI by the patients' age was not an arbitrary decision, since results from the German AML trial had confirmed that FluTBI⁶ led to lower NRM and better survival in patients over the age of 40. A recent retrospective study from the EBMT ALWP found similar findings in patients with ALL in CR1.³¹ However, these studies did not include PTCy as GVHD prophylaxis, and our study suggests that an age-assigned TBI dose may obtain optimal outcomes when incorporating PTCy.

In summary, our single-center study confirms the safety and efficacy of a new FluTBI-PTCy platform for adults with high-risk AL and MDS undergoing MAC allo-SCT from a matched or 1-allele mismatched related or unrelated donor. The new strategy results in lower incidences of severe acute and chronic GVHD, which led to a lower early NRM. Further studies are needed to confirm these results, and better clarify their impact on disease relapse and long-term survival.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sara Redondo and Irene García-Cadenas designed the study, performed research data and wrote the article. Rodrigo Martino designed the study and supervised the project. All authors approved the final version of the article.

ACKNOWLEDGMENTS

Supported in part by grants La Marató 517C/20190318/1330, FIS PI17/01246, AGAUR 2017 SGR 865, and Tercel RD16/0011/0028 from the Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y competitividad.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author [Sara Redondo], upon reasonable request.

ORCID

Sara Redondo <https://orcid.org/0000-0001-8967-7410>

Irene García-Cadenas <https://orcid.org/0000-0002-2994-9055>

Albert Esquirol <https://orcid.org/0000-0002-6062-5980>

Silvana Novelli <https://orcid.org/0000-0001-8750-0195>

REFERENCES

1. Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 1977;49(4):511-533. *Blood*. 2016;128(20):2373.
2. Martino R, Iacobelli S, Brand R, et al. Myelodysplastic syndrome subcommittee of the chronic leukemia working Party of the European Blood and Marrow Transplantation Group. Retrospective comparison of reduced-intensity conditioning and conventional high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2006;108(3):836-846.
3. Scott BL, Sandmaier BM, Storer B, et al. Myeloablative vs nonmyeloablative allogeneic transplantation for patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukemia with multilineage dysplasia: a retrospective analysis. *Leukemia*. 2006;20(1):128-135.
4. Martino R, Valcárcel D, Brunet S, Sureda A, Sierra J. Comparable non-relapse mortality and survival after HLA-identical sibling blood stem cell transplantation with reduced or conventional-intensity preparative regimens for high-risk myelodysplasia or acute myeloid leukemia in first remission. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(1):33-38.
5. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2010;363(22):2091-2101.
6. Gooptu M, Kim HT, Ho VT, et al. A comparison of the Myeloablative conditioning regimen Fludarabine/Busulfan with cyclophosphamide/Total body irradiation, for allogeneic stem cell transplantation in the modern era: a cohort analysis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(8):1733-1740.
7. Jagasia M, Arora M, Flowers ME, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2012;119(1):296-307.
8. Arora M, Cutler CS, Jagasia MH, et al. Late acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(3):449-455.
9. Arai S, Arora M, Wang T, et al. Graft-vs-host disease working committee of the CIBMTR. Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(2):266-274.
10. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14(6):641-650.
11. Prem S, Atenafu EG, Al-Shaibani Z, et al. Low rates of acute and chronic GVHD with ATG and PTCy in matched and mismatched unrelated donor peripheral blood stem cell transplants. *Eur J Haematol*. 2019;102(6):486-493.
12. García-Cadenas I, Awol R, Esquirol A, et al. Incorporating posttransplant cyclophosphamide-based prophylaxis as standard-of-care outside the haploidentical setting: challenges and review of the literature. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(6):1041-1049.



13. Mielcarek M, Furlong T, O'Donnell PV, et al. Posttransplantation cyclophosphamide for prevention of graft-versus-host disease after HLA-matched mobilized blood cell transplantation. *Blood*. 2016; 127(11):1502-1508.
14. McCurdy SR, Kasamon YL, Kanakry CG, et al. Comparable composite endpoints after HLA-matched and HLA-haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Haematologica*. 2017; 102(2):391-400.
15. Lorentino F, Labopin M, Ciceri F, et al. Acute leukemia working party (ALWP) and cellular therapy and Immunobiology working party (CTIWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Post-transplantation cyclophosphamide GvHD prophylaxis after hematopoietic stem cell transplantation from 9/10 or 10/10 HLA-matched unrelated donors for acute leukemia. *Leukemia*. 2021;35(2):585-594.
16. Ruggeri A, Labopin M, Bacigalupo A, et al. Post-transplant cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in HLA matched sibling or matched unrelated donor transplant for patients with acute leukemia, on behalf of ALWP-EBMT. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):40.
17. Sabloff M, Chhabra S, Wang T, et al. Comparison of high doses of total body irradiation in myeloablative conditioning before hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019; 25(12):2398-2407.
18. Bornhäuser M, Kienast J, Trenschele R, et al. Reduced-intensity conditioning versus standard conditioning before allogeneic haemopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission: a prospective, open-label randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13(10):1035-1044.
19. Fasslrunner F, Schetelig J, Burchert A, et al. Long-term efficacy of reduced-intensity versus myeloablative conditioning before allogeneic haemopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission: retrospective follow-up of an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Haematol*. 2018;5(4): e161-e169.
20. Kim HJ, Min WS, Cho BS, et al. Successful prevention of acute graft-versus-host disease using low-dose antithymocyte globulin after mismatched, unrelated, hematopoietic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Jun;15(6): 704-717.
21. Shi L, Lu X, Deng D, et al. The safety and efficacy of a novel hypofractionated total marrow and lymphoid irradiation before allogeneic stem cell transplantation for lymphoma and acute leukemia. *Clin Transl Radiat Oncol*. 2020;12(26):42-46.
22. Monaco F, Scott BL, Chauncey TR, et al. Total body irradiation dose escalation decreases risk of progression and graft rejection after hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndromes or myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2019;104(6):1221-1229.
23. García-Cadenas I, Rivera I, Martino R, et al. Patterns of infection and infection-related mortality in patients with steroid-refractory acute graft versus host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52(1): 107-113.
24. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15(6): 825-828.
25. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11(12):945-956.
26. Valcárcel D, Martino R, Caballero D, et al. Chimerism analysis following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31(5): 387-392.
27. Scott BL, Pasquini MC, Fei M, et al. Myeloablative versus reduced-intensity conditioning for hematopoietic cell transplantation in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes-long-term follow-up of the BMT CTN 0901 clinical trial. *Transplant Cell Ther*. 2021;27(6):483.e1-483.e6.
28. Bento L, Bastida JM, García-Cadenas I, et al. Thrombopoietin receptor agonists for severe thrombocytopenia after allogeneic stem cell transplantation: experience of the Spanish group of hematopoietic stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(9):1825-1831.
29. Penack O, Peczynski C, Mohty M, et al. How much has allogeneic stem cell transplant-related mortality improved since the 1980s? A retrospective analysis from the EBMT. *Blood Adv*. 2020;4(24):6283-6290.
30. Styczyński J, Tridello G, Koster L, et al. Infectious diseases working party EBMT. Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(1):126-136.
31. Spyridonidis A, Labopin M, Savani BB, et al. Retrospective comparison between 12-gray and 8-gray Total body irradiation (TBI) before allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute lymphoblastic leukemia in first complete remission. *Blood*. 2021;138-(Supplement 1):1783.

How to cite this article: Redondo S, García-Cadenas I, Vila A, et al. Sequence matters: Total body irradiation (TBI)-based myeloablative conditioning with post-transplant cyclophosphamide may reduce the early nonrelapse mortality compared with pretransplant cyclophosphamide plus TBI. *Eur J Haematol*. 2023;1-8. doi:10.1111/ejh.13978

