

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA INTERNA

TESIS DOCTORAL

**COMPLICACIONES ORGÁNICAS EN EL TRASPLANTE DE
PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS CON ACONDICIONAMIENTOS DE INTENSIDAD REDUCIDA.**

Doctorando: José Luis Piñana Sánchez

Directores de tesis: Dr. Rodrigo Martino Bofarull y Prof. Jorge Sierra Gil

Agradecimientos

A mi madre, mi hermano, a Rosalía y mis 3 hijos (Guillem, Valeria y Aitana).

Quiero expresar mi reconocimiento a todos los profesionales del hospital de la Santa creu i Sant Pau que me ayudaron a culminar este proyecto. A todos los compañeros de hematología clínica, a Luis (el profesional de archivos que cumplió su trabajo a la perfección buscando las historias clínicas en papel del archivo externo), a enfermería de hematología por su comprensión y paciencia durante mi estancia en la sala de hospitalización, a las administrativas (Mariona y Eulalia) por hacerme más fácil mi vida laboral, y a todos aquellos (demasiados para nombrarlos) que han hecho que mi estancia de nueve años en el hospital de la Santa creu i Sant Pau hayan sido sumamente gratificantes y que perdurarán en mi memoria de por vida.

Del mismo modo, quisiera mostrar mi agradecimiento al Dr. Carlos Solano y a la Profesora Ana Lluch por su confianza y por haber hecho posible mi continuidad en el área del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en el hospital clínico universitario de Valencia, tierra donde nací, crecí y por la cual siento un fuerte arraigo.

A los compañeros de hematología del hospital clínico universitario de Valencia por hacerme sentir parte de un equipo.

Especial mención merecen el Dr. David Valcárcel y el Dr. Pere Barba, el primero por su amistad y su ayuda en mis inicios como hematólogo e investigador, y al segundo por su amistad y su entusiasta implicación en la recogida y procesamiento de datos. Con ambos tuve la fortuna

de formar un magnífico equipo fraterno, alcanzando un engranaje ágil, dinámico y, en mi humilde opinión, fructífero.

Y como todo gran equipo, fuimos dirigidos por el Dr. Rodrigo Martino, que logró despertar en mí no sólo la inquietud por la ciencia y el espíritu crítico sino también la motivación para buscar la mejora constante en la asistencia clínica diaria. Su entrega y respeto hacia los pacientes y familiares junto con su capacidad de observación, de organización, de procesamiento e integración de datos clínicos y biológicos para la toma de decisiones han sido una gran influencia en mi formación y en mi persona.

Por último y no menos importante, quiero expresar mi más sincero y sentido agradecimiento al profesor Jorge Sierra por la confianza, el afecto, el respeto que siempre me ha mostrado y por facilitarme todas las herramientas necesarias para llevar a cabo este ambicioso proyecto.

Glosario de abreviaturas

Alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

Alo-TPH-AIR: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos con acondicionamiento de intensidad reducida

API: aspergilosis pulmonar invasiva

BO: bronquiolitis obliterante

CIBMTR: Center for International Blood and Marrow Transplant Research

CMV: citomegalovirus

CsA: ciclosporina

DLCO: difusión de monóxido de carbono

DNE: donante no emparentado

EICH: enfermedad de injerto contra el huésped

EICT: efecto de injerto contra el tumor

FEV1: Volumen espiratorio forzado en un segundo

FG: filtrado glomerular

FRA: fracaso renal agudo

FVC: capacidad vital forzada

HLA: human leukocyte antigen systeme

ICT: irradiación corporal total

IRVA: infección respiratoria de vías altas

IRVB: infección respiratoria de vías bajas

PFR: pruebas de función respiratoria

PH: progenitores hematopoyéticos

RV: volumen residual

SNC: sistema nervioso central

SNP: sistema nervioso periférico

TLC: capacidad pulmonar total

ÍNDICE

ÍNDICE	7
1. MOTIVACIÓN DE LA TESIS	11
2. PREÁMBULO	13
3. INTRODUCCIÓN.....	15
3.1 EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS	15
3.1.1 <i>Referencia histórica</i>	15
3.1.2 <i>Evolución del Alo-TPH</i>	16
3.1.3 <i>Objetivos del Alo-TPH</i>	19
3.1.4 <i>Técnica del trasplante</i>	19
3.1.5 <i>La enfermedad de injerto contra huésped y el efecto del injerto contra el tumor</i>	22
3.1.6 <i>Limitaciones del Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo.</i>	25
3.2 EL ALO-TPH CON ACONDICIONAMIENTO DE INTENSIDAD REDUCIDA.....	26
3.2.1 <i>Desarrollo clínico</i>	27
3.3 MODELOS PREDICTIVOS DE COMORBILIDADES E ÍNDICES PRONÓSTICO PRE- TRASPLANTE.....	29
3.3.1 <i>El Índice de comorbilidad de Charlson</i>	30
3.3.2 <i>El índice de comorbilidad específico del trasplante hematopoyético (HCT-CI)</i> .	30
3.3.3 <i>PAM score</i>	32
3.3.4 <i>Sistema de puntuación de la función pulmonar (“Lung function score”)</i>	33
3.4 CRÍTICA A LA EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR Y RENAL EN LOS MODELOS PREDICTIVOS ACTUALES	34
3.5 IMPORTANCIA DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN EL ALO-TPH.....	36
3.5.1 <i>Valoración global e interpretación de la función pulmonar</i>	36
3.5.2 <i>Papel de las PFR en el pre-trasplante</i>	44
3.5.3 <i>Las alteraciones de la función pulmonar en el Alo-TPH</i>	45
3.5.4 <i>Complicaciones pulmonares en el Alo-TPH</i>	47
3.5.5 <i>Complicaciones pulmonares no infecciosas</i>	50
3.5.6 <i>Complicaciones Pulmonares infecciosas en el Alo-TPH</i>	58
3.6 FUNCION RENAL EN EL ALO-TPH	65
3.6.1 <i>Importancia de la evaluación renal en el Alo-TPH</i>	65

3.6.2	<i>Métodos de estimación de la función renal</i>	66
3.6.3	<i>Definición de insuficiencia renal y fracaso renal agudo en el Alo-TPH</i>	71
3.6.4	<i>Efectos de la alteración de la función renal en el Alo-TPH</i>	73
3.6.5	<i>Características y etiología del FRA tras el trasplante alogénico</i>	76
3.7	ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN EL ALO-TPH	89
3.7.1	<i>Generalidades</i>	89
3.7.2	<i>Definición y momento de presentación</i>	90
3.7.3	<i>Síntomas y síndromes neurológicos y sus causas</i>	91
3.7.4	<i>Fármacos con toxicidad neurológica comúnmente empleados en el Alo-TPH</i> ...	93
3.7.5	<i>Infecciones</i>	96
3.7.6	<i>Metabólicas</i>	99
3.7.7	<i>Cerebro-vasculares</i>	100
3.7.8	<i>Tumorales</i>	100
3.7.9	<i>Otras</i>	100
3.7.10	<i>Factores de riesgo e impacto de las complicaciones neurológicas en los resultados del Alo-TPH</i>	101
4.	JUSTIFICACIÓN DE LA UNIDAD TEMÁTICA DEL PROYECTO	103
5.	OBJETIVOS	107
6.	RESULTADOS	109
6.1	Artículo 1: Piñana JL, Martino R, Barba P et al. Pulmonary Function Testing Prior To Reduced Intensity Conditioning Allogeneic Stem Cell Transplantation In An Unselected Patient Cohort Predicts Post-Transplantation Pulmonary Complications And Outcome. Am J Hematol. 2012; 87 (1): 9-14.	111
6.2	Artículo 2: Martino R, Piñana JL, Parody R et al. Lower Respiratory Tract Respiratory Virus Infections Increase The Risk Of Invasive Aspergillosis After A Reduced-Intensity Allogeneic Hematopoietic Sct. Bone Marrow Transplant. 2009; 44 (11): 749-56.....	119
6.3	Artículo 3: Piñana JL, Valcárcel D, Martino R Et Al. Study Of Kidney Function Impairment After Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. A Single-Center Experience. Biol Blood Marrow Transplant. 2009; 15 (1): 21-9.....	129

6.4 Artículo 4: Barba P, Piñana JL, Valcárcel D et al. Early And Late Neurological Complications After Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Stem Cell Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2009 Nov; 15 (11):1439-46.	141
6.5 Artículo Anexo 1: Piñana JL, Martino R, Barba P et al. Cytomegalovirus Infection And Disease After Reduced Intensity Conditioning Allogeneic Stem Cell Transplantation: Single-Centre Experience. Bone Marrow Transplant. 2010; 45 (3): 534-42.	151
7. DISCUSIÓN.....	163
8. CONCLUSIONES.....	177
9. BIBLIOGRAFÍA.....	179

1. MOTIVACIÓN DE LA TESIS

Durante mi formación como hematólogo en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, me llamó la atención la novedad y la complejidad técnica e intelectual de un procedimiento terapéutico como es el Alo-TPH. Me pareció fascinante que se hubiera logrado cambiar todos los componentes celulares de la sangre de un paciente a partir de PH de un donante y además que se consiguiera sanar de enfermedades que hasta la fecha se consideraban incurables. Este hecho despertó en mí un gran interés y me llevó a estudiar con mayor profundidad este procedimiento, para entender cómo y porqué se pudo lograr tal proeza.

El contacto personal con eminentes hematólogos y la experiencia acumulada durante mi formación me hizo comprender que en el campo de la hematología destacaban personalidades comprometidas con el estudio científico, con una capacidad de trabajo extraordinaria. Personas implicadas cuyas profundas y constantes inquietudes intelectuales hacían que esta especialidad, en todas sus vertientes, fuese pionera, vanguardista, tremendamente influyente en el resto de especialidades y considerablemente necesaria para cualquier sistema nacional de salud. Constaté que una parte importante del contenido formativo de la especialidad se había generado no sólo por nombres anglosajones desconocidos para profanos sino también por ilustres hematólogos españoles que tuve el privilegio de conocer durante mi formación. Me propuse entonces poner con entusiasmo mi granito de arena, por modesto que éste fuera, para contribuir en lo posible al avance del conocimiento en la especialidad y en concreto en el área del trasplante alogénico.

Tras finalizar mi formación MIR como hematólogo tuve la suerte de contar con el apoyo incondicional del Dr. Jorge Sierra y del Dr. Rodrigo Martino y poder solicitar un contrato de formación en investigación ofertado por el Instituto de Salud Carlos III (CM06/00139, Ministerio de Sanidad, España). Éste me fue concedido en diciembre de 2006. De esta forma tuve el

privilegio de formarme como investigador en un área de gran interés personal como era el Alo-TPH, realizar una estancia de nueve meses donde tuvo lugar el primer trasplante alogénico en el mundo (Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle-USA) y poder disfrutar y aprender del contacto con los co-directores de la presente tesis, mientras sentaba las bases para la elaboración de la misma.

La defensa de la presente tesis doctoral supone un gran paso personal labrado con paciencia y perseverancia a lo largo de varios años, así como la culminación de una fase de aprendizaje fundamental. Del mismo modo, espero que sea el inicio de una etapa fuertemente ligada a la generación de conocimiento y que pueda repercutir positivamente en la sociedad.

2. PREÁMBULO

El ámbito en el que se centra la presente tesis doctoral es el Alo-TPH con terapia de preparación o acondicionamiento de intensidad reducida (Alo-TPH-AIR). Inicialmente, la técnica del Alo-TPH se diseñó a partir de acondicionamientos con agentes alquilantes e ICT en combinación, utilizando dosis muy elevadas que originaban una toxicidad hematológica irreversible y letal. Esta modalidad de trasplante conocida como convencional o acondicionamiento mieloablativo también ocasionaba una gran toxicidad extra-hematológica y sólo podía realizarse en pacientes jóvenes en óptimas condiciones clínicas y sin comorbilidades.

En los años 80, científicos de Seattle demostraron que no era necesaria la utilización de dosis mieloablativas para conseguir un injerto estable y duradero [Storb R et al, 1989]. Este descubrimiento condujo al concepto del Alo-TPH-AIR cuyo objetivo fue reducir la toxicidad extra-hematológica. El Alo-TPH pudo entonces aplicarse a pacientes de edad más avanzada que hasta la fecha y/o con comorbilidades. Pese a la reducción de la toxicidad del Alo-TPH-AIR, tanto la edad avanzada, el mayor número líneas de tratamiento previas, como la presencia de múltiples comorbilidades podrían incrementar el riesgo de toxicidades orgánicas graves; todo ello, a su vez, podría comprometer la supervivencia este tipo de procedimiento. La presente tesis doctoral investiga los factores que determinan el éxito del Alo-TPH-AIR y que son distintos a la progresión o recaída tumoral. Se han analizado e identificado los aspectos previos al trasplante y las complicaciones a corto y medio plazo que determinan el pronóstico de los pacientes.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

3.1.1 Referencia histórica

El profesor Donnall Thomas desarrolló la primera modalidad de Alo-TPH en humanos a finales de la década de los 50 [Thomas ED et al, 1959]. En la década de los 60 y de los 70, Thomas y su equipo de colaboradores de Seattle dieron un gran impulso y perfeccionaron la técnica, lo que permitió salvar la vida a pacientes con leucemia aguda y aplasia medular de otro modo incurables. En 1990, Donnall Thomas recibió el premio Nobel de Medicina.

En los inicios del alo-TPH, el donante de la médula ósea era casi siempre un hermano del paciente, ya que se reconoció la gran importancia de la estrecha compatibilidad genética entre el donante y el receptor (definida por el sistema de compatibilidad leucocitaria antigénica humana conocido como “HLA”, descubierto a finales de los años 1950 por B. Benacerraf, J.Dausset y G.D Snell, lo cual les valió el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1980). La fuente de PH era siempre la médula ósea del donante. En las últimas 3 décadas se ha producido un desarrollo clínico-biológico vertiginoso en el campo del Alo-TPH, respecto a la situación inicial, al aparecer nuevas modalidades en cuanto a la intensidad del acondicionamiento (mieloablativo, sub-mieloablativo, intensidad reducida y no mieloablativo), las fuentes de PH (médula ósea, progenitores hematopoyéticos de sangre periférica y cordón umbilical) y el tipo de donante (se ha traspasado la barrera del parentesco y de la disparidad HLA). También se ha avanzado en el terreno de la inmunosupresión con el desarrollo de nuevos fármacos, nuevas estrategias de manipulación de los componentes celulares y la utilización de la

ciclofosfamida postrasplante, de reciente introducción. Este adelanto, aparte de incrementar el conocimiento del Alo-TPH, de optimizar de los resultados del procedimiento y de mejorar el pronóstico de estos pacientes a lo largo de los años [Gooley TA et al, 2010], ha supuesto una expansión en la aplicabilidad del procedimiento hasta el punto en que, hoy día, cualquier paciente con indicación de Alo-TPH puede disponer de un donante potencial.

Por último, cabe citar el esfuerzo realizado en las últimas décadas por las sociedades científicas de hematología en la creación de organizaciones internacionales *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) y el *European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) y nacionales como el *Grupo Español De Trasplante Hematopoyético* (GETH), que estimulan el avance científico, su divulgación, y que promueven el trabajo cooperativo, la excelencia y optimización en la práctica clínica y la gestión de calidad de los centros trasplantadores mediante la acreditación por parte del Joint Accreditation Committee-ISCT and EBMT (JACIE).

3.1.2 Evolución del Alo-TPH

El Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo a partir de un hermano HLA-idéntico, tanto de médula ósea como de sangre periférica, persiste hasta hoy como la mejor opción cuando hay una indicación de trasplante y el paciente se encuentra en buenas condiciones clínicas. Sin embargo, dada la epidemiología de las enfermedades hematológicas (generalmente ocurren en pacientes de edad avanzada, superior a 50 años), la condición clínica basal (frecuentes comorbilidades) y la baja disponibilidad de un donante familiar HLA-idéntico (en torno al 30%), este procedimiento quedaba limitado a un pequeño porcentaje de pacientes jóvenes en buenas condiciones clínicas.

Los avances logrados en las 3 principales áreas del Alo-TPH (intensidad del acondicionamiento, tipo de donante de PH y profilaxis de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) han permitido la adaptación del procedimiento al tipo de paciente y ampliado sus indicaciones, lo que ha hecho accesible el procedimiento a un mayor número de pacientes. Esta circunstancia se refleja en los registros nacionales e internacionales en los que se observa una creciente actividad de las nuevas modalidades de trasplante, en pacientes de mayor edad (figura 1) y el aumento de la utilización de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (figura 2) [Pasquini MC et al, 2012] así como el incremento de la utilización de fuentes alternativas de PH (figura 3).

Figura 1. Evolución del número de trasplantes en función de la edad de los pacientes (CIBMTR Summary Slides, 2012).

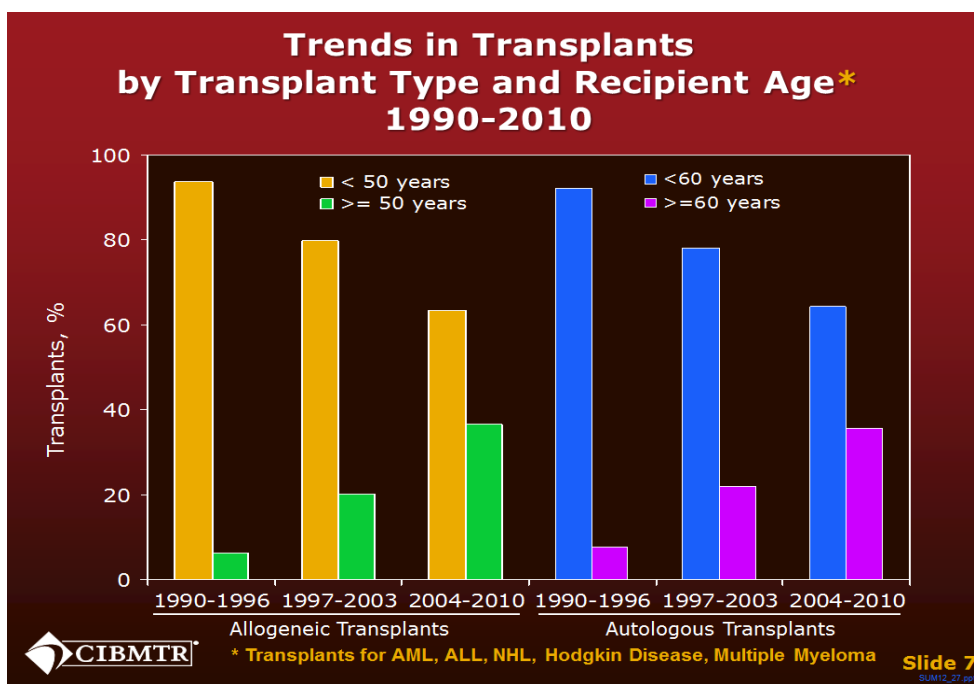


Figura 2. Evolución del número de trasplantes en función de la intensidad del régimen de acondicionamiento (CIBMTR Summary Slides, 2012).

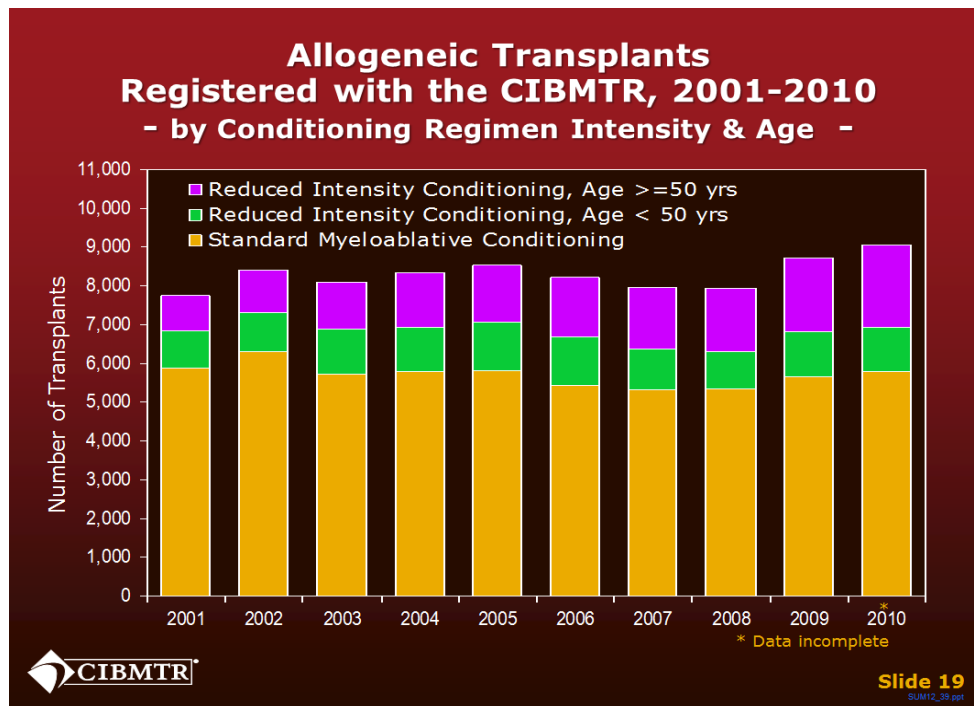
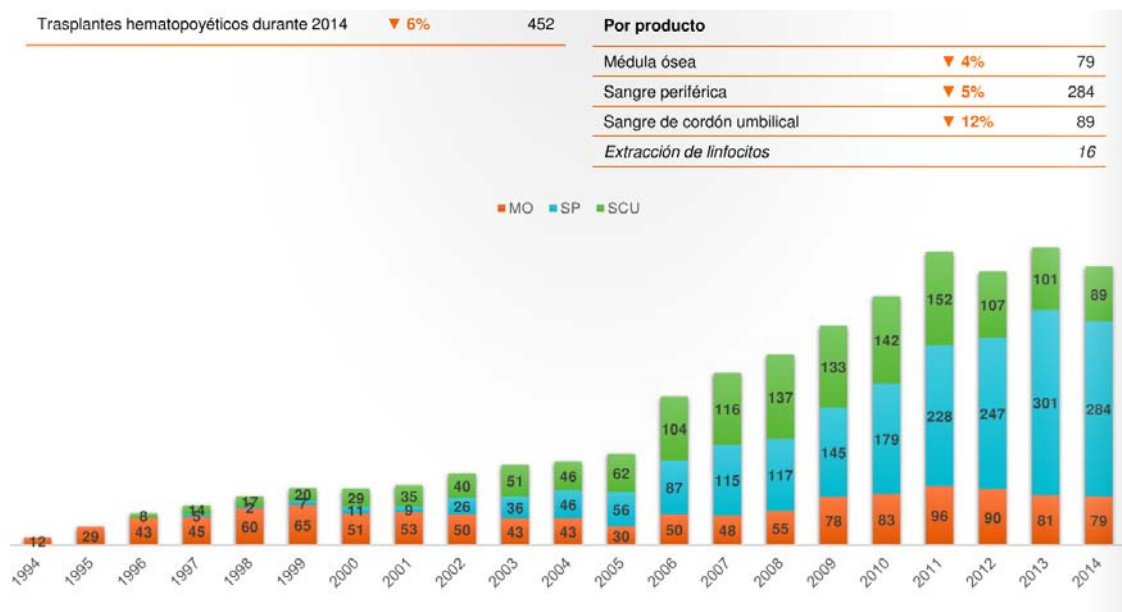


Figura 3. Evolución del número de Alo-TPH en España en función de la fuente de PH utilizada. Fuente: Registro Español de Donantes de Médula Ósea (REDMO) (con permiso).



3.1.3 Objetivos del Alo-TPH

El Alo-TPH tiene como objetivo en la mayor parte de ocasiones conseguir la curación de enfermedades hematológicas, y en especial las neoplasias hematológicas. Su capacidad curativa se basa en dos principios fundamentales:

1) el uso de altas dosis de quimioterapia con/sin radioterapia, que a su vez tiene tres objetivos:

- a) inmunodeprimir al paciente para que sea posible el injerto de las células del donante
- b) eliminar las células neoplásicas.
- c) substituir el contenido de la médula ósea por los PH de un donante sano.

2) el desarrollo del efecto injerto contra el tumor (EICT) mediante el cual los linfocitos T del donante son capaces de reconocer y eliminar las células neoplásicas residuales [Den Haan JM et al. 1995].

3.1.4 Técnica del trasplante

Régimen de acondicionamiento

Se basa en la administración de quimioterapia, con o sin radioterapia, previas a la infusión de PH. En los primeros años, a partir de los modelos animales desarrollados en Seattle, (EUA), los acondicionamientos se realizaron con radioterapia, en especial con la ICT en dosis fraccionada [Thomas DE et al, 1982]. Posteriormente, se intentó substituir la ICT, por la elevada frecuencia de complicaciones orgánicas precoces y tardías, por combinaciones de quimioterápicos como la ciclofosfamida y el busulfan [Santos GW et al, 1983]. En los últimos años,

se han añadido al “*armamentarium*” agentes como los análogos de las purinas (básicamente la fludarabina), sobre todo en regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida. Finalmente, “*agentes inmunoterápicos*” utilizados originalmente como tratamiento específico dirigido contra dianas celulares de las enfermedades neoplásicas, se han añadido a algunos esquemas de acondicionamiento para intensificar el efecto contra la enfermedad de base, como es el caso del rituximab [Khoury IF et al, 2008] o del ibritumomab tiuxetan [Khoury IF et al, 2012].

Fuente de progenitores hematopoyéticos

Gracias al desarrollo de factores de crecimiento hematopoyéticos como el G-CSF por técnicas recombinantes que aumentan la presencia de PH en la sangre periférica de los pacientes se consiguió recogerlos en gran cantidad mediante técnicas de aféresis [Mechanic SA et al, 2003]. Este procedimiento permitió evitar el uso de quirófano, anestesia y disminuir el dolor a los donantes. Su uso se extendió rápidamente entre los centros de trasplante y actualmente representa la fuente de PH más utilizada [Passweg JR et al, 2012]. La diferencia entre médula ósea y sangre periférica radica en la mayor incidencia de EICH crónica, menor tasa de recaídas de la enfermedad de base en los pacientes de edad avanzada y menor tasa de fallos de implante a favor de la sangre periférica [Stem Cell Trialists' Collaborative Group, 2005; Anasetti C et al, 2012].

La última en incorporarse al arsenal de fuentes de PH ha sido la sangre de cordón umbilical. Desde la primera experiencia realizada en Francia por Gluckman y cols en 1988 [Gluckman E et al, 1989], su uso ha crecido de manera exponencial (figura 3). La sangre de cordón umbilical ofrece resultados comparables a los de médula ósea [Laughlin MJ et al, 2004] y sangre periférica [Eapen M et al, 2010] en términos de supervivencia libre de enfermedad.

Prevención de la enfermedad de injerto contra huésped

La EICH es la complicación más característica del Alo-TPH, siendo la principal responsable de la morbi-mortalidad [Vogelsang GB et al, 1994]. Se han desarrollado numerosas estrategias para reducir su incidencia, entre las que cabe comentar medidas como la optimización en la selección del donante (compatibilidad HLA, evitar si es posible la combinación donante mujer y receptor varón, así como en el estatus de inmunidad frente a CMV entre donante y receptor), la descontaminación gastrointestinal selectiva y el uso de fluconazol durante el periodo peri-trasplante. Entre las estrategias inmunodepresoras podemos diferenciar las no farmacológicas y las farmacológicas. Las primeras van encaminadas a disminuir la cantidad de linfocitos T presentes en la celularidad trasplantada (selección positiva de CD34 o selección negativa CD3/CD19) [Urbano-Ispizua A et al, 1997]. Entre las medidas farmacológicas se incluyen la utilización de fármacos inmunodepresores sólo o en combinación. Los más ampliamente utilizados han sido los inhibidores de la calcineurina como ciclosporina A (CsA) o tacrolimus en asociación con metotrexate (MTX). Otros inmunodepresores recientemente utilizados son el micofenolato de mofetilo (MMF), sirolimus, ATG, ciclofosfamida en dosis altas y anticuerpos monoclonales como los anti-IL2R, anti-TNF alfa y anti-CD52 (campath-1). La inmunodepresión farmacológica suele mantenerse durante unos meses hasta que se produce uno de los fenómenos más llamativos en el terreno del trasplante, la “***tolerancia inmune***” (capacidad que adquieren los linfocitos T del donante en tolerar el resto de células del receptor sin desencadenar reacción inmunológica) [Storb R et al, 1985; Perreault C et al, 1989].

3.1.5 La enfermedad de injerto contra huésped y el efecto del injerto contra el tumor

La principal complicación del Alo-TPH es la EICH aguda y/o crónica. La diferencia entre la EICH aguda y crónica se establecía clásicamente en función del momento de aparición, de forma que se consideraba aguda la aparición de la EICH antes del día +100 y crónica cuando ésta se inicia más allá del día +100. Sin embargo, en la actualidad y especialmente en los Alo-TPH-AIR, esto no siempre se cumple siendo frecuente observar EICH aguda que se inicia tras el día +100. Tampoco es extraño ver cuadros clínicos sugestivos de EICH crónica que se inicien antes del día +100 y la presencia de cuadros clínicos combinados (síndrome de solapamiento). Todo esto hace que debamos guiarnos por las manifestaciones clínicas y la anatomía patológica, más que por el momento de aparición del cuadro.

La EICH aguda

La EICH aguda es una enfermedad compleja que suele presentarse del 30% al 60% de los casos, como consecuencia del reconocimiento por parte de las células T del donante de la disparidad antigénica de las células del huésped. La graduación de la severidad de la EICH aguda queda resumida en la tabla 1. El esquema clásico de la fisiopatología de la EICH aguda [Welniak LA et al, 2007; Ferrara JL et al, 2009; Antin JH, 2001] se resume en 5 fases:

1) Estimulación de la respuesta inmune condicionada por el daño celular; se produce la liberación de citocinas pro-inflamatorias que promueven la activación y maduración de las células presentadoras de antígeno (CPA) y la proliferación de linfocitos T del donante [Hill GR et al, 2000; Nestel FP et al, 1992; Piguet PF et al, 1987].

2) Activación y co-estimulación de células T y la expansión de células T, como resultado del reconocimiento y la interacción del receptor de células T (TCR) y moléculas co-estimuladoras con sus ligandos afines expresados en la superficie de la CPA.

3) Expansión y diferenciación de células T alorreactivas.

4) Migración de células T activadas a los tejidos diana de la EICH (principalmente intestino, hígado, piel y mucosas) y reclutamiento del resto de células efectoras [Wysocki CA et al, 2005].

5) Destrucción de los tejidos diana por las células T efectoras a través del reconocimiento antígeno-anticuerpo y la consiguiente liberación de citoquinas, perforinas, etc. El daño tisular conduce a un aumento de las señales inflamatorias, perpetuando y amplificando el proceso.

Tabla 1: Grados de la EICH aguda

ÓRGANO/GRADO DE AFECTACIÓN			
	PIEL⁽¹⁾	HÍGADO⁽²⁾	INTESTINAL
Estadio			
1	Rash < 25%	Bilirrubina 2-3 mg/dL	Diarrea > 500 ml/d o náuseas persistentes ⁽³⁾
2	Rash 25-50%	Bilirrubina 3.1-6 mg/dL	Diarrea > 1000 ml/d
3	Rash > 50%	Bilirrubina 6.1-15 mg/dL	Diarrea > 1500 ml/d
4	Eritrodermia generalizada con bullas	Bilirrubina > 15 mg/dL	Dolor severo con/sin íleo
Grado			
0	Ninguna afectación	Ninguna afectación	Ninguna afectación
I	Estadio 1-2	Ninguna afectación	Ninguna afectación
II	Estadio 3	o estadio 1	o estadio 1
III	-	Estadio 2-3	o estadio 2-4
IV	Estadio 4	O estadio 4	-

(1) Usar la regla de los 9 para el cálculo de la superficie afecta.

(2) Bilirrubina total-. Si hay otras causas que puedan elevar la cifra de bilirrubina reducir un grado.

(3) Náuseas persistentes con evidencia histológica de afectación por EICH aguda gástrica o intestinal.

(4) El grado IV también puede incluir pacientes con afectación menos importante de órganos con afectación muy severa del estado general.

La EICH crónica

La incidencia de EICH crónica es muy variable (del 20% al 85 %) y depende de numerosos factores, como la fuente de PH (cordón umbilical < medula ósea < sangre periférica), tipo de donante, edad (mayores frente a jóvenes) y muchas otras características (mujeres donantes frente a paciente hombre, embarazos previos de mujeres donante, serología CMV, inmunodepresión utilizada). En la mitad de los casos la EICH crónica se presenta en los primeros 6 meses del trasplante. La EICH crónica tiene características que se asemejan a trastornos inmunológicos autoinmunes como la esclerodermia, la dermatomiositis, el síndrome de Sjogren, la cirrosis biliar primaria, el síndrome de caquexia, la BO, citopenias inmunes o inmunodeficiencia crónica. A diferencia de la EICH aguda, en la fisiopatología de la EICH crónica adquieren preponderancia los linfocitos B, la respuesta humoral [Patriarca F et al, 2006], la estimulación de fibroblastos mediada por IL-4 y la respuesta de linfocitos Th2 [Ellison CA et al, 2002] entre otros.

Efecto de injerto contra tumor

La recaída de la enfermedad de base es una de las principales causas de fracaso terapéutico después de alo-TPH y ocurre entre el 10% y el 60% de los pacientes sometidos a Alo-TPH en función de la intensidad del acondicionamiento, el tipo de profilaxis de la EICH y de la fase y el tipo de la enfermedad. La interrupción de la inmunosupresión seguida de infusión de linfocitos del donante (ILD) es capaz de conseguir nuevas remisiones de la enfermedad de base tras una recaída después del Alo-TPH. Otros métodos de inmunoterapia (por ejemplo, la interleuquina-2, interferón alfa, la vacunación con células dendríticas) para la prevención o tratamiento de la recaída después del Alo-TPH están en fase de desarrollo. La justificación del

uso de la terapia celular para prevenir y/o tratar la reaparición de neoplasias malignas se basa en las siguientes observaciones:

1. Las tasas de recaída de la leucemia son mucho más altas en los pacientes que han recibido un trasplante a partir de un gemelo univitelino en comparación con el trasplante de hermanos HLA-idéntico no gemelo [Gale RP et al, 1994]. Esto sugiere que un efecto injerto contra tumor juega un papel importante en la reducción del riesgo de recaída después de un Alo-TPH.
2. Los pacientes que desarrollan EICH aguda o crónica, en particular la EICH crónica, tienen un menor riesgo de recaída [Weiden PL et al, 1979; Weiden PL et al, 1981].
3. La retirada de la inmunodepresión en los pacientes con recaída de leucemia mieloide crónica después del Alo-TPH es capaz de obtener una nueva remisión citogenética coincidiendo con el inicio del desarrollo de EICH [Elmaagacli AH et al, 1999].

3.1.6 Limitaciones del Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo.

Las limitaciones del Alo-TPH mieloablativo dependen del estado y del tipo de enfermedad de base pero esencialmente de las características basales del paciente al que se le va a practicar dicho procedimiento. Dada la alta toxicidad de este procedimiento (dosis altas de quimioterapia y/o radioterapia), los pacientes candidatos a este tipo de trasplante deben cumplir una serie de requisitos, ampliamente aceptados en la mayoría de centros de trasplante:

1. Edad < 50 o edad < 45 años para trasplante alogénico no emparentado.
2. Ausencia de infección no controlada al inicio del acondicionamiento.

3. Bilirrubina total $< x 2$ el valor normal de referencia o AST/ALT $< x 3$ el valor de referencia.
4. Creatinina $< x 1,5$ el valor normal de referencia.
5. FEV1, FVC y /o DLCO $> 50\%$ o ausencia enfermedad broncopulmonar sintomática.
6. Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVIzq) $> 45\%$ o ausencia de arritmias incontroladas o insuficiencia cardiaca.
7. Performance status (ECOG/Zubrod) < 2 y/o Karnofsky $> 60\%$.
8. No haber recibido un trasplante autólogo o alogénico previo.

3.2 El Alo-TPH con acondicionamiento de intensidad reducida

El avance en el conocimiento de los fenómenos involucrados en el prendimiento de los PH del donante en la médula ósea del receptor permitió desarrollar esquemas de acondicionamiento de menor toxicidad, conocidos como acondicionamientos de intensidad reducida, cuyos principios fundamentales se basan en:

- 1) El reconocimiento de que no son necesarias las dosis altas de quimio-radioterapia previa para producir una suficiente inmunodepresión capaz de conseguir un injerto estable [Storb R et al, 1989].
- 2) El reconocimiento del efecto injerto contra tumor (EICT) como mecanismo fundamental de acción del Alo-TPH [Den Haan JM et al. 1995].

3.2.1 Desarrollo clínico

Diversos investigadores desarrollaron esquemas de acondicionamiento menos intensos que se empezaron a denominar “acondicionamientos de intensidad reducida”, “acondicionamientos no mieloablativos” “acondicionamientos sub-mieloablativos” o más popularmente “mini-alotrasplantes”. Los acondicionamientos más utilizados desde el inicio consistieron en la combinación de un análogo de las purinas (generalmente fludarabina en dosis entre 90 y 180 mg/m²) y un agente alquilante (melfalán a dosis de 140 mg/m², busulfán a dosis de 8-10 mg/kg o ciclofosfamida a dosis de 900-2000 mg/m²) con o sin ATG o alemtuzumab [Giralt S et al, 1997; Khouri IF et al, 1998; Slavin S et al, 1998; Childs R et al, 1999; Kottaridis PD et al, 2000; Nagler A et al, 2001]. La profilaxis de la EICH consistía en CsA generalmente asociada a MMF o MTX. Otros grupos utilizaron acondicionamiento de intensidad reducida basados en irradiación tímica o irradiación linfóide total con ATG y posterior inmunodepresión con CsA y MMF, con tasas de injerto mieloide similares [Spitzer TR et al, 2000; Lowsky R et al, 2005]. Globalmente en estos trabajos se observó:

- 1) Una incidencia alta de injerto hematopoyético estable en el tiempo.
- 2) Menor mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) en pacientes de alto riesgo no candidatos a un trasplante con acondicionamiento mieloablativo.
- 3) La demostración del efecto de EICT, al observar supervivencia libre de enfermedad prolongada en pacientes con hemopatías malignas en fases avanzadas.

Una vez confirmada la capacidad de prendimiento del injerto con estos esquemas de acondicionamiento, su uso se extendió a las diferentes fuentes de PH como donantes no em-

parentados y donantes con una diferencia HLA [Kottaridis PD et al, 2000; Spyridonidis A et al, 2005; Sykes M et al, 1999; Bertz H, 2003].

Los criterios de exclusión generalmente aceptados en los centros de trasplante para recibir un Alo-TPH-AIR incluyen los siguientes aspectos:

1. Estado funcional general > 3 de la escala ECOG.
2. FEV1, FVC y DLCO $< 30\%$ de los valores teóricos.
3. FEV1zq $< 35\%$.
4. Enfermedad de base no controlada en el momento del trasplante.
5. Tuberculosis activa y/o receptores seropositivos para VIH.
6. Tumor sólido activo.
7. La presencia de trastornos psiquiátricos graves.
8. La presencia de cirrosis hepática o hepatitis crónica activa.

La edad límite para poder recibir un Alo-TPH-AIR es de 65 años, aunque la tendencia general es diferenciar entre la edad real y la edad biológica, por lo que hay un aumento gradual de pacientes que reciben este tipo de trasplante entre los 65-70 años.

La principal diferencia en la idoneidad del Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo o del Alo-TPH-AIR se resume en que este último se basa fundamentalmente en los criterios de exclusión y no en los de inclusión. Este hecho hace que, por definición, los pacientes que reciben este tipo de trasplante presenten un mayor número de comorbilidades [Sorró ML et al, 2004]. Pese a que los datos publicados hasta la fecha muestran resultados similares entre ambos procedimientos [Martino R et al, 2006; Valcárcel D et al, 2005], la utilización de Alo-TPH-AIR en esta población de pacientes considerados de mayor fragilidad no está exenta de

toxicidad orgánica y merece un estudio detallado. Los estudios que han analizado el efecto global de las comorbiliades pre-trasplante en el Alo-TPH han sido útiles para conocer el riesgo de mortalidad y probabilidad de supervivencia en cada paciente. Sin embargo existen pocos estudios que analicen el efecto individual de cada una de las comorbilidades en el desarrollo de complicaciones orgánicas y qué características y en qué grado estas influyen en la morbilidad y mortalidad en esta población de pacientes.

3.3 Modelos predictivos de comorbilidades e índices pronóstico pre-trasplante

Varios investigadores en los últimos años han tratado de desarrollar modelos predictivos de mortalidad y/o supervivencia, en base a las condiciones clínicas y funcionales del paciente, previo al trasplante [Charlson ME et al. 1987; Sorrow ML et al. 2005; Parimon et al. 2006; Gratwhol A et al. 1998]. El valor predictivo de dichos modelos, validados en diversas cohortes de pacientes en variados escenarios, ha conducido a su incorporación en la práctica clínica diaria para la toma de decisiones en la mayoría de centros de trasplante. La aplicación de dichos modelos podría conllevar modificaciones en la práctica clínica consistentes principalmente en la elección de la intensidad del acondicionamiento, la fuente de progenitores, así como la exclusión de pacientes considerados de muy alto riesgo (índice de comorbilidad alto) por la alta probabilidad de MRT. La mayoría de estos modelos incluyen entre su variables la función pulmonar basal (mediante evaluación de síntomas clínicos y/o utilizando alguno de los parámetros de las PFR, fundamentalmente la FEV1 y la DLCO) y la función renal (basada en la cifra de creatinina y/o haber recibido un trasplante renal previo), con un peso específico relevante en dichos modelos [Charlson ME et al.1987; Sorrow ML et al. 2005; Parimon et al. 2006].

A continuación se detallarán los más utilizados, con mayor reproducibilidad en el contexto del Alo-TPH.

3.3.1 El Índice de comorbilidad de Charlson

Este modelo se desarrolló en los años 1980 en pacientes que ingresaban en el hospital para predecir la mortalidad en el primer año tras el ingreso [Charlson ME et al.1987]. Este modelo incluye 19 comorbilidades y su aplicabilidad en pacientes candidatos a un Alo-TPH presentó numerosas limitaciones, ya que muchas de las variables incluidas son criterio de exclusión de trasplante (por ejemplo: la insuficiencia hepática severa, se define como cirrosis con hipertensión portal y/o varices esofágicas). Otra limitación, es la falta de concreción, objetividad y precisión en algunos de los parámetros (por ej. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica) o la utilización de variables con puntos de corte aleatorios para establecer el grado de disfunción orgánica (por ej. creatinina > 2 mmol/l: insuficiencia renal leve, creatinina entre 2- y 3 mmol/l: insuficiencia renal moderada, trasplante renal o uremia; insuficiencia renal severa).

A pesar de las limitaciones, el índice de Charlson se ha validado en diferentes cohortes de pacientes receptores de Alo-TPH y demostrando cierta capacidad predictiva, sobre todo tras acondicionamiento mieloablativo [Sorró ML et al. 2004; Diaconescu R et al, 2004].

3.3.2 El índice de comorbilidad específico del trasplante hematopoyético (HCT-CI)

Debido a las limitaciones del índice de Charlson pero a partir de éste, investigadores del Fred Hutchinson Cancer Research Center de Seattle (EEUU) desarrollaron un nuevo modelo predictivo en el contexto del Alo-TPH; las principales modificaciones introducidas fueron:

1. La introducción de valores analíticos y/o parámetros de medición de la función de los diversos órganos, entre ellos los de función pulmonar y renal, para valorar de forma más reproducible, precisa y objetiva cada órgano.
2. La inclusión de otras comorbilidades con un impacto previo conocido en el Alo-TPH, lo que permite adaptarse más a la realidad y características de los pacientes que reciben este tratamiento.

El resultado fue la creación de un índice de comorbilidad con 17 variables que, en relación con el modelo de Charlson, contó con 3 nuevas comorbilidades y 9 vieron modificada su peso. Entre las variables de mayor peso se incluyeron la alteración de la función pulmonar y renal. Este modelo permitió estratificar tanto el riesgo de MRT como la supervivencia global en el Alo-TPH (tabla 2).

Dicho modelo pasó a llamarse Índice de Comorbilidad específico de Trasplante Hematopoyético y es más conocido por sus siglas en inglés: HCT-CI [Sorró ML et al, 2005]. Posteriormente, el HCT-CI se ha validado en diferentes cohortes de pacientes: en pacientes con leucemia aguda [Sorró ML et al, 2007], linfomas [Farina L et al, 2009], Alo-TPH a partir de cordón umbilical [Wildes TM et al, 2008], en trasplantes autólogos [Labonté L et al, 2008] y en Alo-TPH-AIR [Barba P et al, 2010].

Tabla 2. El índice de comorbilidad específico del trasplante hematopoyético (HCT-CI)

Comorbilidad	Puntuación	Definición
Arritmia	1	Fibrilación auricular, flutter, síndrome de nodo sinusal enfermo o arritmias ventriculares
Cardiaco	1	Enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca congestiva, IAM, FEVE<50%
Intestinal	1	Crohn o Colitis ulcerosa
Diabetes	1	DM que requiere tratamiento con insulina o antidiabéticos orales
Cerebrovascular	1	AVC o AIT
Psiquiátrico	1	Depresión o ansiedad u otra que requiera seguimiento o tratamiento
Hepático leve	1	Hepatitis crónica, Bilirrubina <26 umol/L, AST o ALT<78U/L
Obesidad	1	IMC>35kg/m ²
Infección previa	1	Infección antes del día 0 que requiera continuación de antibiótico más allá del día 0
Pulmonar moderado	2	DLCO y/o FEV1 66-80% o disnea de mínimos esfuerzos
Reumatológico	2	Lupus sistémico, Artritis reumatoide, Polimiositis, Polimialgia reumática, enfermedad del tejido conectivo
Úlcera péptica	2	Que requiera tratamiento
Renal	2	Creatinina>176umol/l, diálisis, o trasplante renal previo
Tumor previo	3	Tratamiento para neoplasia en algún momento (excluye tumor cutáneo no melanoma)
Valvular cardíaca	3	Diagnosticada (excepto prolapso mitral)
Pulmonar severo	3	DLCO y/o FEV1 ≤65%, disnea en reposo o oxígeno domiciliario
Hepático severo	3	Bilirubina ≥26 umol/L, AST o ALT≥78U/L

3.3.3 PAM score

El modelo predictivo para la determinación del riesgo de mortalidad postrasplante (PAM, en sus siglas en inglés) está basado en una combinación de comorbilidades como la función pulmonar (FEV1 y DLCO), la función renal (basado en la cifra de creatinina), la función hepática y otras variables clásicas pre-TPH como la edad, el tipo de donante y la intensidad del acondicionamiento [Parimon T et al, 2006] (Tabla 3). Este modelo ha mostrado parcialmente su capacidad predictiva ya que su validación externa en otras cohortes de pacientes ha

arrojado resultados dispares [Xhaard A et al, 2008; Barba P et al, 2010]. Por ello, su uso en los centros de trasplante resulta menos habitual.

Debido a los cambios en los tipos de trasplante, donantes y acondicionamientos, investigadores del Fred Hutchinson research de Seattle (USA) han reevaluado la capacidad predictiva del PAM score en una cohorte de 1549 pacientes y observado una limitada capacidad predictiva, por lo que se han visto obligados a actualizar el modelo. En este último, han eliminado la creatinina, la DLCO y la ALT e incluido nuevas variables como la serología CMV en donante y receptor, así como el “Disease Risk Index” [Au BK et al, 2015].

Tabla 3. Variables incluidas en el Modelo predictivo PAM-score

PAM Score
Edad
Tipo de donante
Riesgo de la enfermedad de base
Tipo e intensidad de acondicionamiento
DLCO
FEV1
Cifra de creatinina
Niveles de ALT

3.3.4 Sistema de puntuación de la función pulmonar (“Lung function score”)

La escala de riesgo de la función pulmonar (LFS) se basa en un sistema de puntuación según los valores de DLCO y FEV1 y fue desarrollada por Parimon y cols con el objetivo de predecir de los resultados postrasplante [Parimon T et al, 2005]. El LFS utilizó una gradación de los valores del FEV1 y DLCO y evaluó cada parámetro como normal = 1 punto; alteración leve = 2 puntos; moderada = 3 puntos; y severa = 4 puntos (ver tabla 4). Los pacientes se clasificaron según la puntuación obtenida por la suma de ambos parámetros: normal = 2 puntos;

alteración leve = 3 a 4 puntos; alteración moderada = 5 a 6 puntos; y alteración grave = 7 a 8 puntos. Este modelo predijo de forma significativa el desarrollo de insuficiencia respiratoria precoz, la mortalidad y la probabilidad de supervivencia global en una población de 2852 pacientes sometidos a Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo y Alo-TPH-AIR. Hasta la fecha este modelo no se ha validado.

Tabla 4. Gradación de la afectación de las PFR. (Adaptado de Parimon T et al, 2005)

Parámetros pulmonares	normal	leve	moderada	severa
FEV1	≥80	80-70%	70-60%	<60%
FVC	≥80	80-70%	70-60%	<60%
FEV1/FVC	≥80	80-70%	70-60%	<60%
TLC	≥80	80-70%	70-60%	<60%
DLCO	≥70%	70-60%	60-50%	<50%
RV	≤120	120-140	140-160	≥ 160

3.4 Crítica a la evaluación de la función pulmonar y renal en los modelos predictivos actuales

En el modelo predictivo de Charlson la única variable pulmonar incluida es la presencia de enfermedad pulmonar obstructiva crónica clínica sin tener en cuenta su severidad. Fuera del modelo quedaron el resto de parámetros y patrones pulmonares patológicos, como las enfermedades restrictivas, mixtas o alteraciones de la difusión de monóxido de carbono. Dicho modelo no tuvo en cuenta las PFR, ni el patrón de la alteración de la función pulmonar, ni el grado de severidad, por lo que se puede considerar que la función pulmonar no está plenamente evaluada. Del mismo modo el HTC-CI, el PAM score y el LFS sólo incluyeron la FEV1 y la DLCO, con lo que no se consideran la mayor parte de parámetros de las PFR ni los

diferentes patrones patológicos de función pulmonar, por lo que también se puede considerar que la función pulmonar tampoco está íntegramente evaluada.

Por otro lado, en el modelo de Charlson la alteración de la función renal se basaba en la cifra de creatinina sin tener en cuenta los diferentes factores de variabilidad y sin utilizar el filtrado glomerular como método más preciso de medición de la función renal. Asimismo, tanto el HTC-CI como el PAM no incluyeron el filtrado glomerular y se basaron en la cifra de creatinina y/o haber recibido un trasplante renal previo. Falta por determinar el efecto que una morbilidad individual o en conjunto tiene sobre las características e incidencia del daño orgánico postrasplante. Además, no se ha analizado hasta el momento la capacidad predictiva de estos índices y escalas de riesgo en el desarrollo de complicaciones orgánicas postrasplante. Otra de las limitaciones al construir dichos índices y escalas de riesgo es la falta de un análisis completo y detallado de cada una de las comorbilidades y su efecto en los resultados del procedimiento, para seleccionar con mayor criterio cuales son los marcadores más adecuados que deben introducirse en los citados modelos. En este sentido, recientemente en la tesis doctoral del Dr. Pere Barba se ha analizado con detalle el papel de la función hepática en el Alo-TPH-AIR y se ha observado que el estudio más profundo de la misma puede aumentar la capacidad predictiva de los índices de comorbilidad [Barba Suñol P, 2004].

En definitiva, dado que la evaluación de la función pulmonar y la función renal requieren de un análisis más detallado y preciso (aclaramiento de creatinina y PFR en su conjunto), los índices pronósticos descritos no son del todo completos y se desconoce su valor para predecir el desarrollo de complicaciones orgánicas concretas. Por tanto, este último aspecto es un campo abierto a la investigación.

3.5 Importancia de la función pulmonar en el Alo-TPH

El aparato respiratorio es uno de los órganos vitales que más frecuentemente se ve afectado por complicaciones postrasplante; de hecho, más de la mitad de los pacientes desarrollarán problemas pulmonares de diversa índole. De ahí la importancia de una correcta y exhaustiva evaluación de la función pulmonar previa al procedimiento. La evaluación de la función pulmonar es una valiosa prueba diagnóstica de las alteraciones pulmonares de base, condiciona las decisiones del tipo de trasplante que se le ofrecerá al paciente (parámetro incluido entre los criterios de inclusión y exclusión tanto en el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo como en el Alo-TPH-AIR) y servirá para el seguimiento de la función pulmonar postrasplante.

3.5.1 Valoración global e interpretación de la función pulmonar.

La valoración de la función pulmonar debe incluir:

- Historia clínica con especial atención a los datos de tabaquismo y exposición de tóxicos ambientales y/o laborales.
- Examen físico
- Radiografía de tórax
- Pruebas básicas de la función pulmonar:
 - PFR
 - Gasometría arterial o pulsioximetría

Las PFR son un conjunto de técnicas diagnósticas cuyo objetivo es estudiar los diversos aspectos del funcionamiento del aparato respiratorio. Proporciona una información objetiva, precisa y fiable aunque no exenta de variabilidad entre laboratorios. Desde el punto de vista

funcional, el aparato respiratorio constituye un sistema complejo en el que intervienen numerosos factores y variables físicas. Por tanto, para una mejor comprensión y una correcta interpretación de los resultados de las PFR es imprescindible incluir un breve recordatorio de los principales aspectos analizados en la presente tesis.

Pletismografía pulmonar: Capacidades y volúmenes pulmonares

Las capacidades pulmonares se cuantifican por la medición de los volúmenes pulmonares mediante la pletismografía y la espirometría. En la figura 4 se representan los volúmenes pulmonares más frecuentemente utilizados en la práctica clínica asistencial. En la presente tesis se comentarán sólo los parámetros analizados en el Alo-TPH-AIR.

Capacidad pulmonar total (TLC): Es el volumen de gas en el pulmón al final de una inspiración máxima. Es la suma de la capacidad vital (CV) y del volumen residual (VR). Es una medida del tamaño pulmonar y de la fuerza de la musculatura respiratoria.

Capacidad vital forzada (FVC): es la suma de la capacidad inspiratoria máxima y del volumen de reserva espiratorio.

Volumen residual (RV): es el volumen de gas que queda después de una espiración máxima.

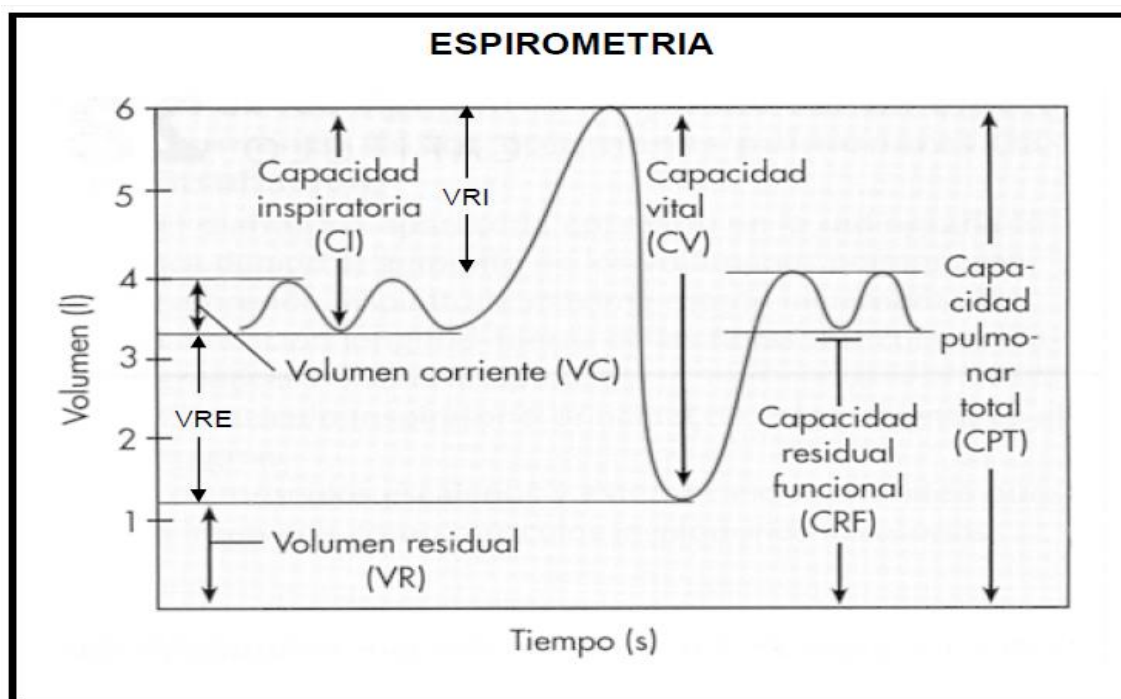
Curvas Flujo-volumen

Las curvas Flujo-volumen representan la dinámica funcional del pulmón. Quedan representados en los siguientes parámetros:

Volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV1): es el volumen de gas espirado durante el primer segundo de una maniobra forzada desde una inspiración máxima.

Relación entre el FEV1 y la capacidad vital forzada (FEV1/FVC o índice de Tyffennau): refleja el grado de obstrucción pero si la capacidad vital está reducida este índice puede subestimar la limitación al flujo.

Figura 4. Representación gráfica de los volúmenes pulmonares [Pérez-Arellano JL et al, 2006].



Difusión de monóxido de carbono (Co)

La medición de la difusión de monóxido de carbono (CO) por respiración única (DLCO o TLCO y KCO) es hoy un test habitual en los laboratorios de función pulmonar y permite evaluar de manera no invasiva el intercambio de gases a través de la membrana alveolo-capilar por lo que su valor estará en función del volumen alveolar, de la cifras de hemoglobina y de la velocidad del flujo arterial. Este parámetro es el que más complejidad ofrece a la hora de ser

estandarizado debido a la gran variabilidad de valores dependientes de las características del paciente, de la técnica utilizada, de la posición del paciente, del momento del día, etc. Chien J y cols sugieren utilizar el valor de la DLCO, corregida por hemoglobina en caso de anemia, sin corregirlo por el volumen alveolar dado que en pacientes con alteraciones del parénquima pulmonar dicha corrección infraestima su valor [Chien J et al, 2005].

Expresión de los resultados de las PFR

Los resultados de las PFR se expresan en forma numérica y gráfica como se presentan en la Figura 5 [Pellegrino R et al, 2005; Sanchis J et al 1989]. Para la expresión numérica suelen utilizarse tres columnas: en la primera se anotan los valores de referencia para cada variable, en la segunda, los valores obtenidos en el paciente y en la tercera, el porcentaje de los valores medidos en relación con los de referencia [Quanjer PH et al 1993]. A partir de estudios epidemiológicos se han realizado ecuaciones de predicción para los diferentes parámetros espirométricos a través de las cuales se obtienen los valores de referencia que varían en función del sexo, la edad, la talla, la etnia y el peso del paciente. Los valores de la espirometría se pueden expresar como valor absoluto o en porcentaje sobre el valor teórico de referencia. Se considerarán patológicos cuando se encuentren por debajo de los valores que se establecen como normales [Becklake M et al 1991]. Estos valores son diferentes para los distintos parámetros estudiados. Para FVC y FEV1, el 80% y para FEV1/FVC entre el 70 y el 85%. Ver valores de referencia en tabla 5.

Alteraciones ventilatorias

El análisis de las PFR nos permite identificar la existencia o no de una alteración ventilatoria significativa y, en caso de existir, clasificarlas en diferentes tipos: obstructiva, restrictiva, mixta y obstrucción de vía aérea central o vías aéreas superiores.

Alteración ventilatoria obstructiva

Se produce en las enfermedades que cursan con limitación al flujo aéreo, bien causada por aumento de la resistencia de las vías aéreas, como es el caso de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o del asma, o por disminución de la retracción elástica del pulmón, como ocurre en el enfisema, o por la combinación de ambas causas. La gráfica espirométrica de estos pacientes adquiere una forma característica con disminución del pico máximo y retraso en la caída. Se caracteriza por disminución de FEV1, FEV1/FVC. La FVC se encontrará normal o ligeramente disminuida. Según la intensidad de la alteración se establecen los grados de severidad de la obstrucción.

Figura 5. Ejemplo de expresión de resultados de la PFR, A) pletismografía, B) curvas flujo/volumen y C) estudio de difusión de monóxido de carbono.

Apellidos:		Identificación:	
Nombre:		Sexo:	hombre
Edad:	34 Años	F. Nacimiento:	29/02/1980
Peso:	68,0 kg	Fumador:	Ex. 3 Años
Altura:	175,0 cm	Procedencia:	Hematología

PLETISMOGRAFIA



		Teor	Med	%Med/T
R tot	[kPa*s/L]	0.30	0.36	119.6
R eff	[kPa*s/L]	0.30	0.32	107.0
R 0.5 IN	[kPa*s/L]	0.30	0.25	83.1
R IN	[kPa*s/L]		0.36	
R EX	[kPa*s/L]		0.40	
R IN eff	[kPa*s/L]		0.29	
R EX eff	[kPa*s/L]		0.35	
R PEAK	[kPa*s/L]		0.37	
SR tot	[kPa*s]	1.18	1.58	133.9
SR eff	[kPa*s]	1.18	1.41	119.8
G tot	[L/(kPa*s)]	3.33	2.79	83.6
G eff	[L/(kPa*s)]	3.33	3.11	93.4
SG tot	[1/(kPa*s)]	0.85	0.63	74.7
SG eff	[1/(kPa*s)]	0.85	0.71	83.5
ITGV	[L]	3.31	3.89	117.6
RV	[L]	1.81	1.59	87.7
TLC	[L]	6.90	7.34	106.3
RV % TLC	[%]	27.22	21.63	79.5
ITGV % TLC	[%]	50.94	53.07	104.2
ERV	[L]	1.50	2.31	153.7
IC	[L]	3.57	3.44	96.4

Fecha de prueba	05/05/14
Hora de prueba	10:30:21

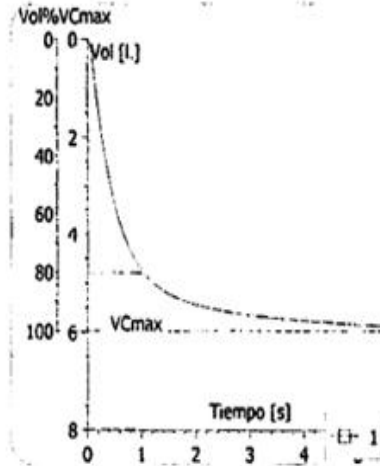
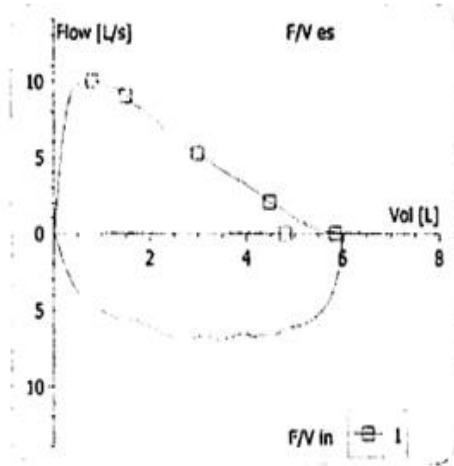
A)

B)

Apellidos:
 Nombre:
 Edad: 34 Años
 Peso: 68,0 kg
 Altura: 175,0 cm

Identificación:
 Sexo: hombre
 F. Nacimiento: 29/02/1980
 Fumador: Ex. 3 Años
 Procedencia: Hematología

Resultados de la curva Flujo/Volumen



	Med1	P	% (M1/T)
FVC	5.84	4.86	120.3
FEV 1	4.80	4.05	118.6
FEV1%F	82.16		
FEV.5	3.57		
PEF	10.02	9.43	106.2
FEF 25	9.06	8.10	111.8
FEF 50	5.27	5.23	100.8
FEF 75	2.04	2.34	87.0
MMEF	4.55	4.63	98.2
FEF50%	90.20	107.67	83.8
FVC IN	5.97	5.07	117.7
FIV1	5.83		
FIV1%F	97.57		
PIF	6.96		
FIF 50	6.68		
FE%FIF	78.93		
Fecha	05/05/14		

C)

Apellidos:		Identificación:	
Nombre:		Sexo:	hombre
Edad:	34 Años	F. Nacimiento:	29/02/1980
Peso:	68,0 kg	Fumador:	Ex. 3 Años
Altura:	175,0 cm	Procedencia:	Hematología

Resultados de la exploración: Difusión

	Teor	A1	%M/T
DLCO SB [mmol/min/kPa]	11.17	8.31	74.4
DLCO/VA [mmol/min/kPa/L]	1.62	1.16	71.5
DLCOc/BSA [mmol/min/kPa/m]		4.55	
DLCO/BSA [mmol/min/kPa/m ²]		4.55	
DLCOc SB [mmol/min/kPa]	11.17	8.31	74.4
DLCOc/VA [mmol/min/kPa/L]	1.62	1.16	71.5
RV-He [L]	1.81	1.69	93.5
TLC-He [L]	6.90	7.34	106.3
FRC-He [L]	3.31	3.92	118.3
FRC%TLC-He [%]	50.94	53.38	104.8
RV%TLC-He [%]	27.22	23.06	84.7
VIN [L]	5.07	5.65	111.3
ERV [L]	1.50	2.22	148.3
VC max (Spir) [L]		5.97	
Hb [g/100ml]		14.60	
TA [s]		11.10	
Fecha de prueba	05/05/14		
Hora de prueba	10:26:28		

Alteración ventilatoria restrictiva

Se produce en las enfermedades que cursan con disminución del volumen pulmonar, que puede ser debida a alteraciones del parénquima pulmonar, de la caja torácica o de la musculatura respiratoria y/o de su inervación. La gráfica espirométrica muestra una disminución global de tamaño con una morfología normal. Se caracteriza por disminución de la FVC y aumento de la relación FEV1/FVC (ha de ser mayor del 85%). Los flujos pueden ser normales o estar ligeramente disminuidos. En la alteración restrictiva es donde los volúmenes estáticos aportan datos adicionales valiosos. Según la intensidad de la alteración se establecen los grados de severidad de la restricción.

Alteración ventilatoria mixta

Se mezclan características de los dos patrones anteriormente comentados. Para saber con más precisión el grado de alteración de cada componente se debe recurrir a los volúmenes pulmonares estáticos (VC, RV y FVC).

Tabla 5. Gradación de los principales parámetros de las pruebas de función respiratoria propuesta por las diferentes sociedades científicas.

Principales clasificaciones de gravedad en las alteraciones ventilatorias			
Trastorno obstructivo		Trastorno restrictivo	
<i>American Thoracic Society</i>		<i>American Thoracic Society</i>	
	<i>FEV1</i>		<i>FVC</i>
Leve	> 70%	Leve	> 70%
Moderada	60-69%	Moderada	60-70%
Moderadamente grave	50-59%	Moderadamente grave	50-60%
Grave	35-49%	Grave	34-50%
Muy grave	< 35%	Muy grave	< 34%
SEPAR		SEPAR	
	<i>FEV1</i>		<i>TLC</i>
Leve	> 65%	Leve	70-80%
Moderada	50-65%	Moderada	60-70%
Grave	35-50%	Grave	< 60%
Muy grave	< 35%		

3.5.2 Papel de las PFR en el pre-trasplante

Como ya se ha comentado anteriormente, el estudio de la función pulmonar forma parte de la evaluación pre-trasplante. De acuerdo con los criterios generales de inclusión, los pacientes candidatos a Alo-TPH con acondicionamiento mieloablatoivo deben presentar una FEV1, FVC y /o DLCO > 50% y no presentar enfermedad broncopulmonar sintomática. Para la realización de un Alo-TPH-AIR, este criterio ha sido más laxo y se exige que dichos pará-

metros no sean inferiores al 30%. Se desconocen hasta la fecha las implicaciones de esta laxitud de criterio y que riesgos se asumen a la hora de ofrecer un Alo-TPH-AIR a pacientes con alteraciones pulmonares leves, moderadas o severas.

3.5.3 Las alteraciones de la función pulmonar en el Alo-TPH

Aunque varios estudios en Alo-TPH han analizado el valor de la función pulmonar pre-trasplante en el desarrollo de complicaciones pulmonares, en la mortalidad y la supervivencia, la mayor parte incluye un número limitado de pacientes, de características muy heterogéneas y con carácter básicamente descriptivo. Además, pese a que las PFR incluyen numerosos parámetros de función pulmonar, la mayoría de los estudios sólo incluyen en los análisis la FEV1, la FVC y la DLCO.

En los años 90, diversos estudios analizaron la asociación entre las alteraciones de las PFR pre-trasplante y el riesgo de complicaciones pulmonares postrasplante con resultados dispares. El estudio de Ghalie y cols [Ghalie R et al, 1992], con 160 pacientes incluidos trasplantes autólogos y Alo-TPH, mostró que los valores de FEV1, FVC, TLC, y DLCO pre-trasplante fueron significativamente inferiores en los pacientes que tenían antecedentes de irradiación del tórax, toracotomía y/o metástasis pulmonares. Además el análisis multivariante de regresión lineal, objetivó que sólo el valor de la FEV1 se asoció significativamente con una mayor incidencia de complicaciones pulmonares (coeficiente de regresión de 0.149, $p = 0.0005$). Matute-Bello y cols con 307 pacientes, observaron que la DLCO <65% se asoció a una mayor probabilidad de síndrome de obstrucción sinusoidal (SOS) hepática (OR 2.4, IC 95%: 1.0 a 5.4, $p = 0.04$). La incidencia de SOS hepática fue del 36,4 % en los pacientes con una DLCO <65%, comparado con un 11,9 % en pacientes con una DLCO >65 % ($p = 0.001$) [Matute-Bello G et al, 1998]. Del mismo modo, Parimon y cols mostraron que con la FEV1 y

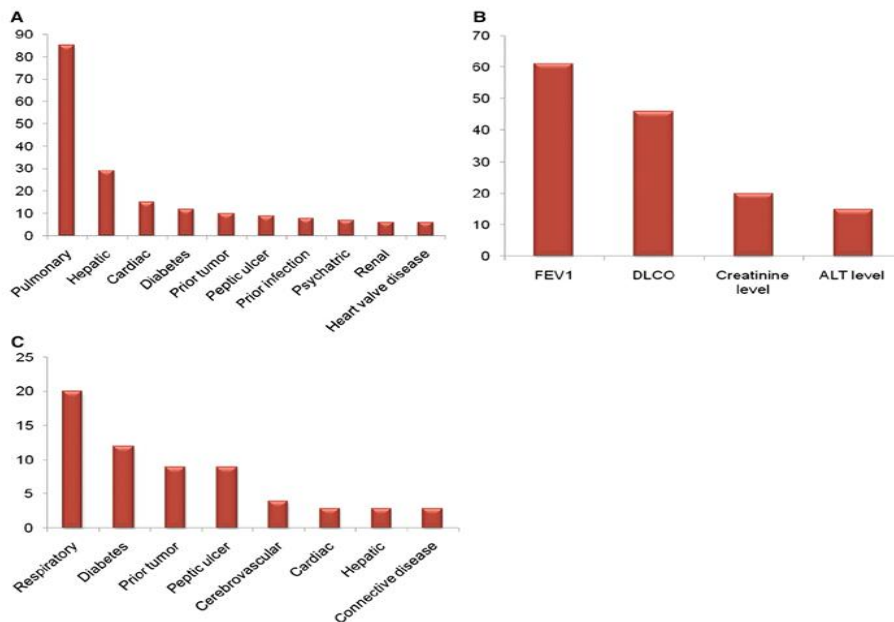
la DLCO se podría construir un modelo (LFS) con capacidad predictiva para el desarrollo de insuficiencia respiratoria precoz [Parimon T et al, 2005]. En cambio, Schwarer y cols, con un número inferior de pacientes (n= 60), no encontraron ningún parámetro de función pulmonar asociado a complicaciones pulmonares tardías [Schwarer AP et al, 1992].

Por otro lado, Clark y cols fueron de los primeros en estudiar, a partir de las PFR pre-trasplante, el desarrollo de obstrucción al flujo aéreo durante el postrasplante detectado mediante PFR seriadas. Dichos autores observaron que el cociente FEV1/FVC pre-trasplante no parecía predecir el desarrollo de un patrón de obstrucción pulmonar dado que este parámetro no se modificaba significativamente al año del trasplante ($R^2= 0.51$, $P < 0.0001$) [Clark JG et al. 1987]. En cambio, Chien y cols del grupo de Seattle llevaron a cabo dos estudios de seguimiento en pacientes Alo-TPH entre 1990 y 2000 con el mismo objetivo [Chien JW et al, 2003; Chien JW et al, 2004]. Estos autores observaron que un valor de FEV1/FVC < 0.8 pre-trasplante multiplicaba por 2 el riesgo de desarrollar obstrucción al flujo aéreo al año del trasplante, lo que sugirió que los pacientes con un patrón obstructivo en las PFR pre-trasplante tienen mayor riesgo de progresión del patrón obstructivo tras el Alo-TPH.

En cuanto al valor de las PFR como factor predictivo de mortalidad y supervivencia también se observaron resultados discrepantes. Crawford y cols realizaron un estudio en 1992 en el que la espirometría previa al trasplante y las mediciones de volúmenes pulmonares no mostraron utilidad a la hora de predecir el riesgo de mortalidad durante el primer año del trasplante. Sin embargo, tanto la DLCO $< 80\%$ como el gradiente de presión de oxígeno arterial sí que se asociaron con un incremento de la mortalidad [Crawford SW et al, 1992]. Más tarde, Goldberg y cols estudiaron la asociación entre la función pulmonar pre-trasplante y la mortalidad en los primeros 100 días después del Alo-TPH. En el análisis multivariante la FEV1 $< 78\%$ ($p = 0.0002$) y la DLCO $< 52\%$ ($p = 0.002$) se asociaron con mayor riesgo de mortali-

dad precoz [Goldberg SL et al, 1998]. Esta asociación entre las PFR y mortalidad fue corroborada en estudios posteriores [Parimon T et al, 2005]. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha incluye una población de pacientes que recibieron acondicionamiento que incluía ICT. Se desconoce por lo tanto, el valor de las PFR en pacientes Alo-TPH-AIR y sin ICT, circunstancias en las que las alteraciones pulmonares pre-trasplante son con mucho las más frecuentes (figura 6) [Barba P et al, 2010].

Figura 6. Distribución de las comorbilidades en pacientes Alo-TPH-AIR en base a las definiciones de A) HCT-CI, B) PAM-score y C) Índice de Charlson (con permiso de Barba P et al).



3.5.4 Complicaciones pulmonares en el Alo-TPH

El aparato respiratorio es uno de los principales órganos diana de las complicaciones post-trasplante en el Alo-TPH. La afectación pulmonar se da en un 40-60% de los enfermos trasplantados [Soubani AO et al, 1996] y de estos más del 30% precisarán soporte ventilatorio [Afessa B et al, 1992]. La lesión pulmonar depende de múltiples factores como: 1) momento

del trasplante, 2) grado de compatibilidad HLA, 3) estado de inmunodepresión, 4) esquema de acondicionamiento, 5) edad y comorbilidades y 6) factores de riesgo individuales.

Las diferentes complicaciones tienden a ocurrir dentro de unos períodos de tiempo definidos que reflejan el estado del sistema inmunológico (ver figura 7). El agrupamiento basado en dicho estado a lo largo del tiempo será de gran utilidad de cara a la orientación diagnóstica, al inicio de tratamiento empírico y al manejo inicial de estos enfermos. Se distinguen 3 periodos principales:

- a) periodo de neutropenia, desde el día 0 hasta la 4ª semana tras la infusión de PH.
- b) periodo precoz, desde la 4ª semana hasta el día +100 (en este periodo el paciente está en riesgo de desarrollar la EICH aguda).
- c) periodo tardío, el paciente está en riesgo de desarrollar EICH crónica.

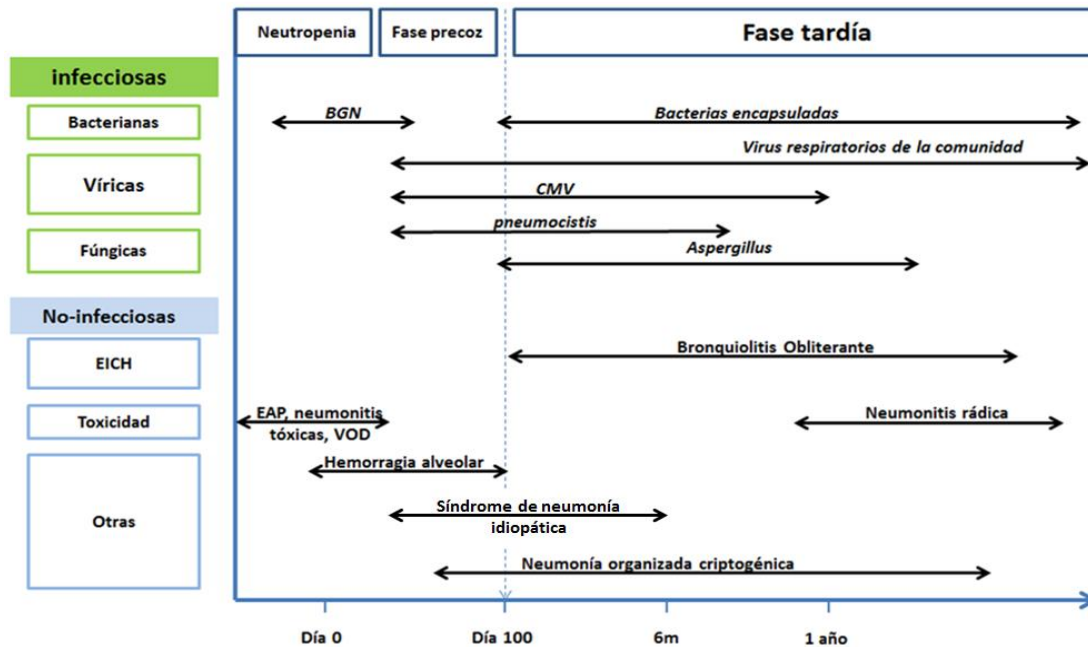
Periodo de neutropenia (primeros 30 días): en este periodo el paciente sufre las consecuencias de la toxicidad directa de los fármacos utilizados en el acondicionamiento, de la intensa hidratación y del desarrollo de neutropenia profunda. Durante este período los infiltrados pulmonares difusos frecuentemente se asocian a edema pulmonar, toxicidad por fármacos y/o infecciones por gérmenes bacterianos, las infecciones oportunistas no son prevalentes. Las complicaciones pulmonares más frecuentes son:

- 1- Distress respiratorio del adulto secundario a síndrome de respuesta inflamatoria sistémica por toxicidad o infección.
- 2- Edema pulmonar por exceso de fluidos (50% de los A10-TPH)
- 3- Insuficiencia cardíaca congestiva por cardiotoxicidad de la QT
- 4- Neumonía bacteriana generalmente por bacterias Gram negativas
- 5- Hemorragia pulmonar secundaria a trombocitopenia severa.

Periodo precoz (de los días 30 a 100): en este periodo el paciente se encuentra en riesgo de desarrollar EICH aguda. Generalmente el paciente se encuentra en su domicilio, en contacto estrecho con familiares y allegados. Suelen ser frecuentes las neumonías víricas, especialmente por CMV y virus respiratorios humanos de la comunidad, y con menor frecuencia el síndrome de neumonitis idiopática. Todos estos procesos son indistinguibles clínicamente y su presentación varía desde síntomas respiratorios insidiosos hasta la rápida instauración de una insuficiencia respiratoria con requerimientos de oxígeno y soporte ventilatorio. Durante este período el número de neutrófilos y su función suele ser normal, pero persisten alteraciones de la inmunidad celular y humoral que hace que las infecciones oportunistas sean más incidentes.

Periodo tardío (> días 100): de tres a seis meses tras el Alo-TPH la función inmune del huésped suele tender a la mejoría, se produce la denominada reconstitución inmunológica, excepto en aquellos pacientes con EICH aguda y/o crónica o con requerimientos de corticoides de forma prolongada (>15 días). Por lo general el paciente ya se encuentra en su domicilio por lo que se verá expuesto en su medio a diferentes patógenos (principalmente virus respiratorios de la comunidad, esporas de hongos, etc). En este contexto, las complicaciones pulmonares tardías por gérmenes oportunistas (hongos filamentosos tipo aspergillus, pneumocistis, levaduras, etc), en ausencia de profilaxis antimicrobiana, son las que predominan junto con las infecciones por virus respiratorios con un riesgo aumentado de neumonitis vírica. Los pacientes con EICH crónica estarán en riesgo de desarrollar también el síndrome de BO.

Figura 7. Principales complicaciones pulmonares en función del tiempo de aparición en el periodo postrasplante (adaptado de Sirithanakul K et al, 2005.)



3.5.5 Complicaciones pulmonares no infecciosas

Las complicaciones pulmonares no infecciosas son de etiología muy diversa y de difícil diagnóstico. Generalmente se consideran consecuencia del régimen de acondicionamiento, del tratamiento de soporte, del estado de inflamación y/o del estado de alorreactividad e inmunosupresión. Con excepción de las complicaciones directamente relacionadas con la EICH, la mayor parte de datos disponibles sobre complicaciones no infecciosas derivan de estudios en receptores de TASP. Entre las complicaciones pulmonares no infecciosas se encuentran la lesión pulmonar inducida por fármacos y/o radioterapia, el síndrome de obstrucción sinusoidal pulmonar, el síndrome del injerto, la lesión pulmonar relacionada con la transfusión, el síndrome de neumonía idiopática, la hemorragia alveolar difusa, la BO y la neumonía criptogénica organizada.

Toxicidad pulmonar inducida por radioterapia y/o fármacos

La neumonitis tóxica secundaria a quimio y/o radioterapia ha sido ampliamente estudiada en el trasplante autólogo de PH en pacientes con cáncer de mama [Bhalla KS et al, 2000]. Sin embargo en el terreno del Alo-TPH existen pocos estudios enfocados al estudio de esta complicación, en parte debido a la dificultad en la confirmación del diagnóstico. Se ha observado asociación entre la ICT y su dosis con el desarrollo de patrones restrictivos en las PFR en pacientes generalmente asintomáticos [Thomas O et al, 2001; Gore EM et al, 1996] y también con el desarrollo de neumonitis idiopática [Weiner RS et al, 1986]. La lesión pulmonar inducida por fármacos y/o por radioterapia suele presentarse de forma tardía. Los cambios histopatológicos pulmonares producidos por agentes quimioterápicos y radioterapia son indistinguibles. Los agentes citotóxicos suelen afectar a la totalidad del pulmón mientras que la lesión por radiación sólo afecta al volumen de pulmón irradiado.

Neumonitis rádica

Podemos encontrar lesiones histológicas en todos los pacientes que hayan recibido dosis de unos pocos cientos de Grays de radioterapia. El efecto de una dosis letal de radiación en el parénquima pulmonar tiene como resultado congestión y edema alveolar que se hace evidente en semanas o meses tras la exposición. El daño endotelial produce cambios en la perfusión y cambios en la permeabilidad de la barrera alvéolo-capilar. Se produce una exudación de material proteináceo al alvéolo, produciéndose una reducción del intercambio gaseoso. Aparece una infiltración de células inflamatorias y descamación de las células epiteliales de la pared alveolar. Unas pocas semanas después el edema intersticial se organiza en fibras de colágeno, lo que eventualmente conduce al engrosamiento de los septos alveolares con disminu-

ción del surfactante citoplasmático contenido en los cuerpos lamelares y descamación de células al interior del alvéolo. A los seis meses el proceso continúa, marcado por la disminución del tamaño de los alveolos residuales y el subsiguiente engrosamiento de las paredes vasculares por la adición de colágeno, el cual frecuentemente reemplaza al lumen capilar. La lesión pulmonar tardía se caracteriza por una fibrosis de los septos alveolares. Los alveolos tras colapsarse son obliterados por tejido conectivo. Estos cambios se pueden resolver en semanas o meses. Sin embargo, dependiendo del volumen de parénquima pulmonar irradiado, la dosis total, y la dosis fraccionada, estos cambios exudativos patológicos, pueden desembocar en una neumonitis radica aguda [McDonald S et al 1995].

Neumonitis farmacológica

Diversos fármacos utilizados en los regímenes de acondicionamiento se han asociado a toxicidad pulmonar, entre ellos el más ampliamente estudiado ha sido la bleomicina. El mecanismo de toxicidad está relacionado con la formación de radicales libres y la peroxidación lipídica de los fosfolípidos de las membranas, con la siguiente sucesión de hechos: incremento de la permeabilidad que provoca edema intersticial, balonización y necrosis de los neumocitos tipo I y formación de membranas hialinas debido al paso de fluido y proteínas plasmáticas a través del epitelio. Los neumocitos tipo I son reemplazados por células cúbicas produciendo proliferación de fibroblastos y fibrosis.

Síndrome del injerto

Este síndrome es más frecuente en pacientes que han recibido un trasplante autologo de PH [Maiolino A et al, 2003] aunque también se ha descrito en el Alo-TPH. Se caracteriza por la presentación de insuficiencia respiratoria aguda junto con infiltrado algodinoso pulmonar

bilateral, fiebre y erupción cutánea eritematosa, que puede confundirse con EICH aguda cutánea. La fisiopatología de esta complicación se basa en que el proceso de injerto produce una compleja interacción entre el microambiente y las citoquinas de las células interactuantes. Monocitos y linfocitos T activados generan una tormenta de citoquinas a través de la producción inicial de interleuquina 2 (IL-2), TNF- α , γ - o interferón. Estas citoquinas tempranas estimulan al microambiente y a linfocitos T los cuales producen y liberan IL-3, GM-CSF e IL-8 causando un aumento de la permeabilidad del endotelio de los capilares con el consiguiente edema tisular [Lee CK et al, 1995].

Síndrome de obstrucción sinusoidal pulmonar

La SOS pulmonar es una complicación rara en el Alo-TPH. Una extensa revisión de la literatura observó que en la mayoría de los casos reportados el acondicionamiento utilizado fue ciclofosfamida e ICT [Bunte MC et al, 2008]. La SOS pulmonar se presenta de forma insidiosa con disnea progresiva, taquipnea e hipoxemia a los 3-4 meses tras el Alo-TPH. La radiografía de tórax suele ser normal. El examen físico, el electrocardiograma y la ecografía cardíaca muestran signos de hipertensión pulmonar. La gammagrafía de ventilación-perfusión es normal y sirve para excluir el tromboembolismo pulmonar. Las pruebas funcionales respiratorias no demuestran obstrucción al flujo aéreo. La forma de diagnosticar la SOS pulmonar es mediante un cateterismo derecho que demuestre una hipertensión pulmonar con presión de enclavamiento normal y con una angiografía que descarte trombo-embolismo pulmonar. Esta complicación presenta una mortalidad del 100% a los 2 años [Mandel J et al, 2000].

Hemorragia alveolar difusa

Este síndrome, descrito por Robbins y cols [Robbins RA et al, 1989] suele afectar a pacientes tras trasplante autólogo y, aunque con menor incidencia, también se han descrito en pacientes que han recibido un Alo-TPH [Lewis ID et al, 2000]. La hemorragia alveolar difusa (HAD) se caracteriza histológicamente por una lesión alveolar difusa, con presencia de hemáties en los alvéolos. Clínicamente los pacientes presentan infiltrados pulmonares bilaterales difusos e hipoxemia. El lavado bronco-alveolar (LBA) se hace progresivamente más hemático en ausencia de puntos visibles de sangrado en las vías aéreas y por microscopia se observa la presencia de macrófagos con hemosiderina. La hemoptisis es rara. Los síntomas aparecen con una media de 12 días tras el Alo-TPH y coinciden en el tiempo con la recuperación de la cifra de neutrófilos, lo cual sugiere un mecanismo inmunológico. La fisiopatología de la HAD es multifactorial y la lesión del endotelio pulmonar es probablemente el punto final de diversos procesos fisiopatológicos [Sisson JH et al, 1992]. La evidencia clínica de que los corticoides son útiles en el HAD apoya la idea de un mecanismo inmunológico. En un estudio sobre 65 pacientes con HAD tratados con altas dosis de corticoides demuestra una mejora de la supervivencia y una disminución de la progresión a insuficiencia respiratoria y de los requerimientos de ventilación mecánica, aunque aumenta de forma significativa el número de infecciones [Metcalf JP et al, 1994].

Síndrome de neumonitis idiopática

El síndrome de neumonitis idiopática (IPS) es una complicación grave en el Alo-TPH. El diagnóstico se realiza por exclusión de otras causas de afectación pulmonar. Se estima una incidencia del 3% a 15% en Alo-TPH mieloablatoivo basada en estudios de pacientes en los que se hace biopsia pulmonar o autopsia [Atkinson K et al, 1998; Grañena A et al, 1993;

Wingard JR et al, 1988; Weiner RS et al, 1986]. Los factores de riesgo identificados incluyen las enfermedades oncohematológicas, la presencia de EICHa y la edad avanzada [Crawford SW et al, 1993; Wingard JR et al, 1988]. En 12 estudios con 4.496 pacientes que habían recibido un Alo-TPH [Afessa B et al, 2001], la incidencia global de IPS fue del 10% (rango: 2% - 17%). La tasa de mortalidad fue del 74% (rango 60% -86%), independientemente del tratamiento recibido. El estudio de Fukuda y cols comparó la incidencia de neumonía idiopática entre 917 pacientes Alo-TPH myeloablativo vs 183 pacientes Alo-TPH-AIR y mostró una menor incidencia en estos últimos (8% vs 2%, $p < 0.003$). Estos datos sugieren que la intensidad del acondicionamiento juega un papel determinante en la lesión pulmonar [Fukuda T et al, 2003]. Recientemente investigadores de Seattle (USA) han analizado las muestras de LBA de 69 pacientes diagnosticados de IPS con las técnicas moleculares actuales para la detección de virus, hongos y bacterias y observaron que en el 56% de los casos se detectó algún patógeno, el más frecuente el *virus herpes 6* seguido del *rhinovirus* [Seo S et al, 2015]. Estos datos ponen de manifiesto la complejidad del diagnóstico de dicha entidad y sobre todo la dificultad en conocer la incidencia exacta de la misma.

Edema pulmonar

Esta complicación es común durante el período de neutropenia [Hamilton PJ et al, 1986]. La frecuente infusión de grandes cantidades de líquido combinado con un estado hemodinámico lábil y una función renal alterada por efecto directo de fármacos nefrotóxicos son los principales responsables. Además, el aumento de la permeabilidad capilar que se produce por el daño endotelial de los tejidos debido a la radioterapia, la quimioterapia y los procesos infecciosos también conduce al edema de pulmón [Dickout WJ et al, 1987]. Los hallazgos radiográficos del tórax muestran opacidades pulmonares bilaterales difusas en vidrio deslustra-

do, a menudo acompañado de líneas B de Kerley. Los hallazgos de la tomografía axial computarizada (TAC) de alta resolución del tórax muestra vasos prominentes pulmonares, engrosamiento septal interlobar, la atenuación en vidrio deslustrado y derrame pleural [Barloon TJ et al, 1991]. Generalmente el tratamiento diurético suele controlar el cuadro clínico [Dickout WJ et al, 1987].

Bronquiolitis obliterante

La BO es una manifestación pulmonar grave que se caracteriza por una lesión inflamatoria inespecífica que afecta principalmente a las vías respiratorias de pequeño tamaño. La incidencia de BO es muy variable, oscila entre 1 y 14% [Santo Tomas LH et al, 2005; Au BK et al, 2011]. Entre 2152 receptores de Alo-TPH de 9 estudios, la incidencia de BO fue del 8.3% [Afessa B et al, 2001]. La BO está fuertemente asociada con la EICH crónica, lo que sugiere que la BO es una manifestación pulmonar de la propia EICH [Yousem SA, 1995]. Los factores de riesgo identificados para el desarrollo de BO son la sangre periférica como fuente de PH [Santo Tomas LH et al, 2005], el uso de metotrexato para la profilaxis de la EICH, la edad avanzada del receptor y/o del donante, acondicionamientos basados en busulfán y de intensidad mieloablativa, infección respiratoria vírica previa y niveles bajos de inmunoglobulinas en suero [Yoshihara S et al, 2005; Holland HK et al, 1988]. La presentación de la BO suele ser insidiosa, con una mediana de inicio de 6-12 meses tras el Alo-TPH. Los principales síntomas son la tos seca, la disnea progresiva y la presencia de sibilancias. La presentación asintomática detectada por PFR que muestran un patrón obstructivo junto con signos radiológicos de atrapamiento aéreo (tomografía computarizada de alta resolución de tórax con imágenes de inspiración y espiración) no es excepcional y se observa hasta en un 20% de los casos. El diagnóstico definitivo de BO se obtiene mediante confirmación histológica a partir de la biop-

sia pulmonar, pero debido al alto riesgo de complicaciones graves del procedimiento y de cara a mejorar la identificación de esta entidad, recientemente se han propuesto unos criterios clínicos diagnósticos para la BO [Filipovich AH et al, 2005].

Criterios diagnósticos:

1. FEV1 / FVC < 0,7 y FEV1 < 75 % del valor de referencia.
2. Pruebas de atrapamiento aéreo o pequeño engrosamiento de las vías respiratorias o de bronquiectasias en la TAC de tórax de alta resolución.
3. Ausencia de infección.
4. Presentar EICHc inequívoca en otro órgano.

El tratamiento consiste en esteroides sistémicos e inhalados pese a lo cual el pronóstico de los pacientes con BO sigue siendo malo con una mortalidad elevada. Con una supervivencia a los 2 y 5 años del 45% y del 15%, respectivamente [Chien JW et al, 2010], en la mayoría de los pacientes con BO la muerte se produce por insuficiencia respiratoria progresiva o infecciones oportunistas.

Neumonía organizada criptogénica

También conocida como BO con neumonía organizada, la neumonía organizada criptogénica (NOC), es un síndrome clínico-patológico que implica bronquiolos, conductos alveolares y alvéolos. Los lúmenes de los alvéolos se rellenan de tejido de granulación. Se ha descrito por primera vez en pacientes no trasplantados, asociados con infecciones, drogas, enfermedad vascular del colágeno o como una forma idiopática. En el marco del Alo-TPH, la NOC se presenta como una neumonía intersticial, aunque existen escasos datos de esta complicación en la literatura [Ditschkowski M et al, 2007; Freudemberger TD et al, 2003]. En comparación con BO, la NOC es más precoz en el curso del Alo-TPH, principalmente entre 1 y 12 meses

tras el trasplante, y con una incidencia inferior al 2%. La presentación clínica suele ser aguda, con tos seca, disnea y fiebre, y suele asociarse a la EICH. La radiografía de tórax muestra consolidaciones irregulares en los campos pulmonares periféricos, atenuación en vidrio deslustrado y opacidades nodulares. En contraste con la BO, las PFR muestran un patrón restrictivo con disminución de la TLC y DLCO junto con valores normales del FEV1 [Yoshihara S et al, 2007]. La broncoscopia con LBA es útil para descartar procesos infecciosos. El diagnóstico definitivo se basa en la histopatología. A pesar de la falta de evidencia clínica, los esteroides sistémicos o inhalados se consideran tratamiento de primera línea.

3.5.6 Complicaciones Pulmonares infecciosas en el Alo-TPH

A pesar del avance experimentado en las últimas décadas en el tratamiento de soporte, el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, el avance en técnicas diagnósticas y en la profilaxis infecciosa, la neumonía infecciosa sigue siendo la principal causa de morbimortalidad en el Alo-TPH con una incidencia del 30% al 60% [Aguilar-Guisado M et al, 2011; Chen CS et al, 2003]. Como se refleja en la figura 6 el desarrollo de las complicaciones pulmonares infecciosas vienen determinadas por el estado de vulnerabilidad inmunológica del paciente durante el Alo-TPH, variando su etiología en función del momento en el que se encuentre el paciente.

Bacterianas

La neumonía bacteriana puede ocurrir en cualquier momento durante el periodo postrasplante, pero es especialmente frecuente durante el período de neutropenia profunda. Es una de las complicaciones infecciosas pulmonares más frecuente en el Alo-TPH [Aguilar-Guisado M et al. 2011]. Los patógenos Gram-negativos, especialmente *Escherichia coli*, *Pseudomona*

aeruginosa y *Klebsiella pneumoniae*, predominan en los primeros 100 días, mientras que los organismos encapsulados Gram positivos tales como el *Streptococcus pneumoniae* predominan en el periodo tardío [Lossos IS et al, 1995]. La neumonía bacteriana, cuando aparece en el contexto de la EICH, presenta una alta tasa de mortalidad [Aguilar-Guisado M et al. 2011]. Se debe tener una alta sospecha clínica ya que la neumonía bacteriana se precede comúnmente de fiebre, pero los síntomas respiratorios y signos pueden estar ausentes en el huésped debido a la neutropenia. Probablemente debido a la escasez de neutrófilos, las anormalidades de la radiografía simple de tórax pueden ser sutiles o ausentes. En una serie de receptores de Alo-TPH, el uso de la tomografía axial computarizada de alta resolución reveló la presencia de infiltrados sugestivos de neumonía en más del 50 % de los pacientes neutropénicos febriles con radiografías de tórax normales [Heussel CP et al, 1997].

Infecciones respiratorias víricas

CMV

La neumonía por CMV se define por la presencia de signos y/o síntomas de afectación pulmonar combinada con la detección de CMV en muestras de fluido del LBA o en tejido de pulmón mediante pruebas histopatológicas, análisis inmunohistoquímico o técnicas de hibridación in situ [Cordonnier C et al, 2001]. Los pacientes Alo-TPH presentan un alto riesgo de desarrollar neumonía por CMV debido a la ausencia y/o retraso en la reconstitución inmune de linfocitos T específicos, condicionado por la necesidad de recibir fármacos inmunosupresores como profilaxis y/o tratamiento de la EICH. En ausencia de profilaxis antiviral y/o de estrategias de tratamiento anticipado guiadas por técnicas diagnósticas como la antigenemia pp65 o métodos de PCR, la incidencia de la neumonía por CMV se sitúa entre el 20% al 35%

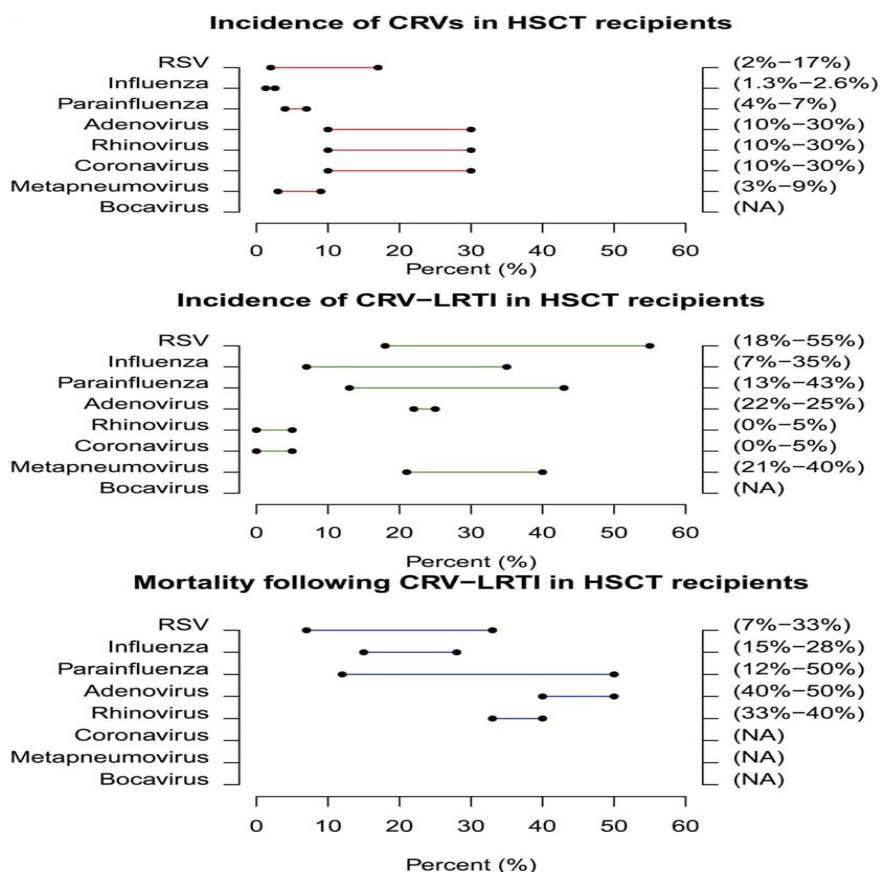
en comparación con sólo el 6.1% en los receptores de un TASP [Boeckh M, 1999; Konoplev S et al, 2001; Machado CM et al, 2000]. La profilaxis universal ha reducido la incidencia de la neumonía por CMV durante el periodo de neutropenia y el periodo precoz, pero con esta estrategia también ha cambiado la epidemiología de la enfermedad siendo de aparición más tardía [Nguyen Q et al, 1999]. Investigadores de Seattle, observaron que la introducción de la profilaxis conllevó una disminución en la incidencia de la enfermedad por CMV en los primeros 100 días, del 35% al 6%, mientras que la incidencia de la enfermedad más allá de los primeros 100 días aumentó del 4% al 15 % [Boeckh M, 1999]. Estos hallazgos sugieren que la profilaxis universal podría retrasar la reconstitución anti-CMV de forma considerable en estos pacientes. La estrategia de tratamiento anticipado permite tratar sólo a aquellos pacientes que presenten reactivación de CMV en sangre antes de que ocurra la enfermedad. Con dicha estrategia también se ha observado una disminución de la incidencia de enfermedad por CMV así como un retraso en la aparición de la neumonía por CMV en el periodo tardío [Boeckh M et al, 2003]. Sin embargo existen pocos datos del impacto de dicha estrategia en el desarrollo de neumonía por CMV así como la incidencia real de la neumonía por CMV en el contexto del Alo-TPH-AIR.

Infecciones respiratorias por virus respiratorios de la comunidad

La infección por virus respiratorios de la comunidad (VRC) es muy frecuente en los receptores de un Alo-TPH y sigue un patrón estacional con más frecuencia desde otoño hasta el inicio de la primavera en el hemisferio norte. Se estima que la incidencia de un primer episodio de infección respiratoria por VRC en el Alo-TPH es del 30-40% [Milano F et al, 2011; Peck AJ et al, 2007; Martino R et al, 2005] aunque probablemente esta cifra sea más alta en función de cómo y con qué intensidad se buscan. Como se observa en la figura 8 la incidencia

de IRVA por VRC en pacientes Alo-TPH oscila entre el 3% y el 30% en función del virus aislado, mientras que las IRVB por VRC, incluyendo neumonías, oscila entre el 0 al 55% [Shah DP et al, 2012]. Asimismo la mortalidad atribuible a estos virus varía del 7% al 50%. La diferencia en las incidencias reportadas en los estudios podría explicarse por la gran variabilidad de las manifestaciones clínicas en la mayoría de las infecciones virales (desde asintomáticas o subclínicas hasta cuadros de insuficiencia respiratoria de instauración brusca). Este hecho implica que el muestreo para descartar estos patógenos es tremendamente heterogéneo y no se suele realizar de forma sistemática. Del mismo modo, la epidemiología cambiante de los virus y las diferencias en los métodos de diagnóstico utilizados justifican la gran variabilidad de las incidencias reportadas [Martino R et al, 2005; Chakrabarti S et al, 2002; Nichols WG et al, 2001; Nichols WG et al, 2004; Flomenberg P et al, 1994; Lewis VA et al, 1996]. Debido a las dificultades diagnósticas y a que muy probablemente se desconocen muchos de los virus responsables de episodios de IRVA y/o de IRVB, desde la European Conference on Infections in Leukemia (ECIL) se ha propuesto una clasificación con vistas a diferenciar el tipo de infección (infección o enfermedad de vías respiratorias altas, infección o enfermedad de vías respiratorias bajas) así como la certeza con la que se realiza el diagnóstico (posible, probable o confirmada) [Hirsch HH et al, 2013]. El espectro clínico de estas infecciones es muy amplio, desde portadores asintomáticos pasando por síntomas inespecíficos de mal estado general, cuadro catarral, fiebre, hasta traqueo-bronquitis y neumonía grave. Hasta la fecha, no hay datos epidemiológicos sólidos con un adecuado número de pacientes sobre la incidencia global de infecciones por virus respiratorios y su impacto en los resultados en receptores de un Alo-TPH-AIR.

Figura 8. Incidencia de las infecciones respiratorias virales e IRVB asociada y la mortalidad en los receptores de TPH. * CRV indica infecciones por virus respiratorios de la comunidad; HSCT, trasplante de PH; LRTI, infección del tracto respiratorio inferior; y NA, datos no disponibles [Shah DP et al, 2012].



Infecciones respiratorias de origen fúngico

Las infecciones fúngicas invasoras (IFI) han ido en aumento en la última década a expensas de hongos filamentosos entre los cuales el *Aspergillus* sigue siendo el más prevalente (figura 9) [Pagano L et al, 2006]. El principal órgano diana de estas infecciones es el pulmón. La API se erige como una de las complicaciones más devastadoras en al Alo-TPH, frecuentemente asociada a una alta morbi-mortalidad. La incidencia de la aspergilosis invasiva parece estar aumentando entre los receptores de Alo-TPH y actualmente se aproxima al 10-15%

[Wald A et al, 1997; Grow WB et al, 2002; Marr KA et al, 2002]. Los factores potenciales que han contribuido al aumento de la incidencia de las IFI son:

- 1) el aumento del número de pacientes en riesgo debido a la introducción de acondicionamientos de intensidad reducida y al aumento de la supervivencia global.
- 2) la mejora en las técnicas diagnósticas microbiológicas permitiendo incrementar la identificación (detección de Ag Galactomanano).
- 3) la mayor accesibilidad de técnicas diagnósticas radiológicas.

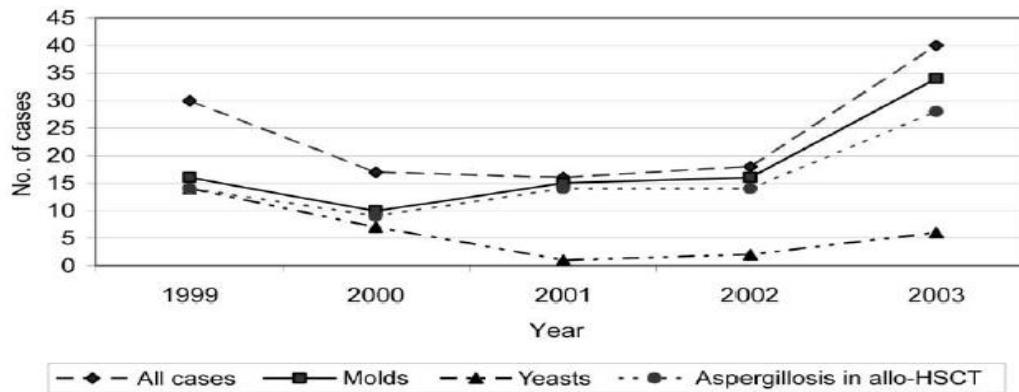
Los principales factores de riesgo identificados en esta población de pacientes son:

- 1) la neutropenia.
- 2) la depleción ex-vivo de células T (selección de CD 34 positiva o negativa) o in-vivo (utilización de agentes como ATG o alentuzumab).
- 3) la edad avanzada.
- 4) la presencia de EICH aguda o crónica moderada-severa.
- 5) utilización prolongada de esteroides (>30mg/d).
- 6) enfermedad previa por CMV [Marr KA et al, 2002; Garcia-Vidal C et al, 2008].

El diagnóstico definitivo de la API continua siendo difícil y hasta un 30% de los casos se diagnostican post-mortem [Denning DW, 2000]. El desarrollo de la profilaxis, las técnicas de diagnóstico precoz y la aparición de nuevos fármacos anti-fúngicos con actividad anti-aspergillus han contribuido significativamente a la reducción de la mortalidad de esta complicación [Ramos ER et al, 2011]. En contra de lo esperable, la introducción de acondicionamientos de intensidad reducida no ha disminuido la incidencia de aspergilosis pulmonar y

parece que el desarrollo de la misma se ha retrasado en comparación con los Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo [Fukuda T et al, 2003].

Figura 9. Evolución anual en la incidencia y etiología de las infecciones fúngicas invasivas [Pagano L et al, 2006]



Pneumocystis jiroveci

En ausencia de profilaxis, la incidencia de neumonía por *pneumocitis jiroveci* es de un 16 % en pacientes Alo-TPH [Meyers JD et al, 1979]. Desde la utilización generalizada de profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol oral, con dapsona o pentamidina inhalada esta complicación se ha reducido drásticamente. Se recomienda la profilaxis generalmente hasta 6 meses postrasplante para todos los receptores Alo-TPH, y debe extenderse más allá en pacientes que reciben inmunosupresión y aquellos con EICH crónica activa [Dykewicz CA, 2001].

3.6 Funcion renal en el ALO-TPH

3.6.1 Importancia de la evaluación renal en el Alo-TPH

La función renal en el área del Alo-TPH es importante por su implicación en el metabolismo y eliminación de numerosos fármacos. A priori es fundamental presentar una función renal correcta de cara a predecir la farmacocinética y farmacodinamia de los agentes quimioterápicos utilizados. Una función renal alterada podría producir fluctuaciones en la exposición a dichos fármacos pudiendo ver retrasada su eliminación, incrementar su exposición y por consiguiente aumentar su toxicidad. Asimismo, una función renal correcta permitirá la utilización de numerosos fármacos con un importante perfil nefrotóxico tanto para el tratamiento de las complicaciones infecciosas durante el periodo de neutropenia, como son antibióticos (en especial aminoglucósidos), antivirales (aciclovir, ganciclovir, foscarnet) y antifúngicos (anfotericinas, formulaciones con dextrina como el voriconazol iv) como también para la profilaxis de la EICH con inhibidores de la calcineurina (ciclosporina A y tacrolimus), metotrexate y/o el sirolimus. La función renal basada en el valor de la creatinina en suero forma parte de los criterios de inclusión en los Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo (creatinina <1.5 mmol/ml). Igualmente la alteración renal está incluida como factor de riesgo en el índice de comorbilidad de Charlson, el HCT-CI y en el PAM score, con capacidad predictiva de supervivencia global tras el Alo-TPH [Sorrer ML et al, 2005; Parimon T et al, 2006].

La valoración de la función renal incluye:

- Historia clínica con especial atención a los datos de factores de riesgo cardiovascular (HTA, diabetes mellitus, dislipemia, tabaquismo).
- Examen físico.

- Analítica completa (creatinina sérica, urea, electrolitos, ácido úrico).
- Cálculo del aclaramiento de creatinina.
- Bioquímica de orina (excreción de creatinina, urea, Na, K+, ph urinario), sedimento de orina y proteinograma de orina de 24h.
- Ecografía renal.

Pese a la importancia que tiene la función renal en el ALO-TPH, en la gran mayoría de los centros de trasplante la determinación de la creatinina plasmática suele ser la única forma de valorar la función renal pre-trasplante. Sin embargo, en la actualidad existen numerosas formas de evaluar la función renal con mayor exactitud. A continuación se revisarán brevemente los diferentes métodos existentes para una correcta evaluación de la función renal.

3.6.2 Métodos de estimación de la función renal

Tradicionalmente se ha considerado a la medición del filtrado glomerular (FG) como el mejor índice de funcionamiento renal tanto en personas sanas como enfermas, proporcionando una excelente medida de la capacidad de filtrado glomerular renal y siendo reflejo de la masa renal funcionante.

La medición exacta del FG es compleja ya que no se puede determinar directamente. Se precisa de una sustancia que proceda de una fuente exógena, de concentración estable en plasma, libremente filtrada por el glomérulo y que no esté sometida a procesos de secreción, reabsorción ni metabolización renal. Una sustancia que cumple estas características es la inulina, considerándose durante mucho tiempo el aclaramiento de inulina como la medida “gold standard” de filtrado glomerular [Schumann L et al, 1990; Groth T et al, 1978; Jagenburg R et al, 1978]. Pero se trata de un procedimiento laborioso, incómodo y no aplicable a la práctica clínica habitual, por lo que su determinación se reserva a los laboratorios de investi-

gación. En cambio, existen otras alternativas que nos dan una aproximación adecuada del filtrado glomerular mediante la utilización de radioisótopos como el ^{125}I -iotalamato, ^{99}Tc -DTPA, ^{169}Y -DTPA o ^{51}Cr -EDTA, o contrastes radiológicos como el iohexol o el iotalamato, pero su uso está limitado por las medidas de seguridad que requieren y la necesidad de unas instalaciones adecuadas no disponibles en la mayoría de los hospitales [Sinton TJ ET AL, 1986; Perrone RD et al, 1990; Rocco MV et al, 1996]. Recientemente se ha propuesto a la cistatina C como buen marcador del FG. El aclaramiento de la Cistatina C es tan bueno (94%) como el de otros marcadores ampliamente aceptados (^{51}Cr -EDTA). Se trata de una molécula cuya concentración en suero no se afecta por la edad, el sexo, la masa muscular o la talla del individuo, sin embargo su generalización no está asentada en la práctica clínica por la falta de evidencia del beneficio de su utilización [Dharnidharka VR et al, 2002; Filler G et al, 2005]. A continuación se resumen las técnicas de determinación del FG más comúnmente empleados en la práctica clínica diaria.

Concentración de creatinina en plasma

La concentración de creatinina en plasma supone un marcador ideal de filtración glomerular ya que su aclaramiento se aproxima estrechamente al valor del filtrado glomerular, su tasa de excreción es constante entre individuos y a lo largo del tiempo su medida es habitualmente utilizada para evaluar la función renal, sin embargo presenta numerosas limitaciones ya que su concentración plasmática está afectada por distintas fuentes de variabilidad biológica, múltiples interferencias analíticas e importantes problemas de estandarización. Por ello, conviene tener en cuenta algunos hechos que nos pueden inducir a error.

La concentración de creatinina en plasma deriva principalmente del metabolismo muscular de la creatina y su síntesis es proporcional a la masa muscular total del individuo. Por

ello, la generación media de creatinina es mayor en personas jóvenes, en varones y en la raza negra, lo que obliga a tener en consideración la edad, el sexo, la raza y la masa muscular al interpretar su concentración en plasma. La pérdida de masa muscular producida en la restricción proteica, la anorexia, caquexia o la malnutrición se asocia a una reducción de la generación de creatinina, mostrando estos individuos concentraciones de creatinina en plasma por debajo de los esperados para su nivel de filtrado glomerular. Se debe considerar que aunque la creatinina presente en plasma se filtra libremente por el glomérulo, es también secretada en el túbulo proximal. Por tanto, el aclaramiento de creatinina sistemáticamente sobreestima el FG, siendo esta sobreestimación del 10% al 40% en individuos normales [Wesson L, 1969; Lemann J et al, 1990], y aún mayor en individuos con enfermedad renal crónica (ERC) [Mitch WE et al, 1980]. Por ello, en el 40% de los individuos con descenso del FG tienen una concentración de creatinina en suero dentro del intervalo de referencia. Otro problema es la eliminación extra renal de creatinina, incrementada en pacientes con ERC. En pacientes con ERC la excreción renal de creatinina es menor de lo esperado para su edad, sexo y peso. La última consideración es respecto a los métodos de medición de la concentración de creatinina en plasma. El método más utilizado para cuantificar los estadios iniciales de la ERC, la concentración de creatinina en plasma, puede ser normal a pesar de la reducción del FG. Además la calibración de los diferentes métodos comerciales no está estandarizada lo que da lugar a variación de resultados intra e inter laboratorios [Mascioli SR et al, 1984; Gerard SK et al, 1985; Mali B et al, 1988].

Aclaramiento de creatinina

La medición del aclaramiento de creatinina se realiza clásicamente en un período de 24 horas. La creatinina se produce a ritmo constante y se filtra libremente por glomérulo, por

lo que conociendo la concentración de creatinina en suero, en orina y el volumen de diuresis podemos calcular el aclaramiento de creatinina y así estimar el filtrado glomerular. Con esta fórmula resolvemos el problema interindividual dependiente de la masa muscular que produce la medición aislada de la concentración de creatinina en plasma. Ello implica otros inconvenientes como son los errores en la recogida de la orina, los problemas derivados de la homogenización y medida de volumen y la variación en la secreción tubular. La necesidad de disponer de toda la orina producida en un período de 24 horas supone un inconveniente para el paciente e implica imprecisiones y errores en la recogida y medición de la misma, que nos pueden llevar a una infra o sobrestimación del FG [Mascioli SR et al, 1984]. Por otro lado, la fracción de creatinina secretada a través del túbulo proximal renal provoca una sobreestimación del filtrado glomerular como ya se ha comentado. Esta secreción tiene una considerable variabilidad inter e intra individual que hace imposible predecir los cambios en el FG a partir de los cambios en el aclaramiento de creatinina.

A modo de resumen, en la práctica clínica habitual la determinación de la creatinina en suero debe acompañarse de la valoración de la edad, el sexo, la raza y la masa corporal. Del mismo modo, el aclaramiento de creatinina no es el método más óptimo para valorar la progresión de la ERC, aunque sí es buen indicador del límite superior del FG. Son cada vez más numerosas las publicaciones que defienden la estimación del FG a través de ecuaciones basadas en la concentración de creatinina en suero.

Ecuaciones de estimación del filtrado glomerular

Numerosos estudios señalan que la utilización de métodos de predicción del FG exhibe menor probabilidad de error que el producido al medir el aclaramiento de creatinina basado únicamente en la cifra de creatinina plasmática. Todas las fórmulas utilizan el inverso de la

concentración de creatinina en plasma como factor independiente, e incluyen en la fórmula el peso, la altura, el sexo, la edad, la raza u otras variables multiplicadas por diferentes factores de corrección. En la Tabla 6 se resumen las ecuaciones recomendadas por la Sociedad Española de Nefrología para estimar la función renal. De todas ellas, la más divulgada y utilizada hasta ahora es la fórmula de Cockcroft-Gault, derivada de un estudio de 249 pacientes sin enfermedad renal y su correlación con el FG calculado a través de iotalamato y con 99TC-DTPA [Cockcroft DW et al, 1976]. Las medidas de precisión indicaban que la mayoría (mediana del 75 %) de los filtrados glomerulares estimados estaban dentro del 30 % del filtrado glomerular medido, lo que se considera una precisión suficiente para considerar este método como bueno en la práctica clínica con excepción de pacientes obesos y/o con IRC avanzada [Rigalleau V et al, 2006].

Tabla 6. Ecuaciones recomendadas para estimar la función renal en pacientes en situación estable. La fórmula de Cockcroft-Gault debe corregirse por 1,73 m² de superficie corporal [Rodrigo-Calabria E, 2004].

NOMBRE	FÓRMULA
MDRD 7	$\text{FG (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 170 \times [\text{creatinina plasmática (mg/dl)}]^{-0,999} \times \text{edad}^{-0,176} \times [\text{nitrógeno uréico (mg/dl)}]^{-0,170} \times [\text{albúmina plasmática (g/dl)}]^{+0,318} \times [0,762 \text{ si mujer}] \times [1,18 \text{ si raza negra}]$
MDRD abreviada o modificada	$\text{FG (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 186 \times [\text{creatinina plasmática (mg/dl)}]^{-0,154} \times [\text{edad}]^{-0,203} \times [0,742 \text{ si mujer}] \times [1,21 \text{ si raza negra}]$
Cockcroft-Gault	$\text{Aclaramiento de creatinina (ml/min)} = \frac{[(140 - \text{edad}) \times (\text{peso en kg}) \times (0,85 \text{ si mujer})]}{(72 \times \text{creatinina plasmática en mg/dl})}$

El mayor estudio que ha evaluado la ecuación de Cockcroft-Gault en un solo laboratorio ha sido el estudio MDRD (Modification of Diet in Renal Disease), donde se evidenció una sobreestimación en torno al 23 % del FG con la fórmula de Cockcroft-Gault. En este estudio el aclaramiento de creatinina de orina de 24 horas resultó ser menos preciso para estimar el filtrado glomerular (variabilidad del 22 %) que la estimación mediante la fórmula de Cockcroft-Gault (variabilidad 10 %). El estudio MDRD se realizó sobre un total de 1628 pacientes con enfermedad renal, de los cuales 558 constituían la muestra de validación interna del FG medido con ¹²⁵Iotalamato. Con la ecuación del MDRD la diferencia entre filtrado glomerular estimado y el medido fue inferior al 30% en el 90% de los individuos [Levey AS et al, 1999]. Posteriormente, otros investigadores desarrollaron una nueva fórmula abreviada MDRD 4, derivada de este estudio y considerada como la más sencilla y útil en la práctica clínica. Recoge variables como la edad, sexo, raza y concentración de creatinina en suero [Levey AS et al, 2000].

3.6.3 Definición de insuficiencia renal y fracaso renal agudo en el Alo-TPH.

La definición y la graduación de la alteración de la función renal en el contexto del Alo-TPH es muy variable entre los diversos estudios publicados. Las definiciones van desde aumentos en la cifra de creatinina >1.5 del valor basal pasando por descensos del FG $>25\%$, creatinina $\times 2$ del valor basal, o los requerimientos de diálisis [Lopes JA et al, 2011]. La falta de consenso en los criterios diagnósticos de insuficiencia renal y de fracaso renal agudo hace bastante compleja la comparación entre estudios. La definición de enfermedad renal crónica en el HCT-CI (Creatinina $> 176 \mu\text{mol/l}$, diálisis, o trasplante renal previo) es diferente a la del PAM score (cifra de creatinina como variable continua) o al del índice de comorbilidad de

Charlson (ICC) (alteración leve, creatinina entre 2-3 mmol/ml; moderada, creatinina >3 mmol/ml; y severa, pacientes en diálisis con uremia o trasplante renal previo) [Charlson ME et al.1987]. Recientemente “The Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group” ha establecido una definición de consenso denominada por sus siglas en inglés RIFLE para el fracaso renal agudo en el paciente crítico (tabla 7) [Bellomo R et al, 2004]. Sin embargo su utilización en estudios de Alo-TPH es limitada [Ando M et al, 2010; Yang WC et al, 2013]. Pese a la falta de consenso en la definición de la alteración de la función renal la más ampliamente utilizada en el contexto del Alo-TPH utiliza la cifra de creatinina basal >1.5 del basal o una reducción del FG >25% para definir el inicio de FRA [Lopes JA et al, 2011].

Tabla 7. Definición de consenso de fracaso renal agudo basado en la cifra de creatinina y FG (adaptado de Bellomo R et al, 2004)

	Creatinina y FG
R isk (en riesgo)	Aumento de la creatinina sérica x1.5 o descenso de FG >25%
I njury (lesión renal)	Aumento de la creatinina sérica x2 o descenso de FG >50%
F ailure (fracaso renal)	Aumento de la creatinina sérica x3 o descenso de FG >75% o Creat sérica >4 mg/dl
L oss (pérdida de función renal)	FRA persistente = pérdida de función renal >4 semanas
E SKD (end stage kidney disease)	Insuficiencia renal avanzada >3 meses

3.6.4 Efectos de la alteración de la función renal en el Alo-TPH

Insuficiencia renal pre-trasplante

La inferencia que la insuficiencia renal crónica moderada-grave pre-trasplante contribuye a aumentar la MRT ha restringido clásicamente la utilización de los Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo y no mieloablativo en pacientes con alteración de la función renal. En consecuencia, los datos sobre el efecto de la alteración de la función renal pre-trasplante en los resultados del Alo-TPH son escasos [Kersting S et al, 2008]. Existen muy pocos estudios que evalúen esta condición, con resultados contradictorios [Knudsen LM et al, 2005]. Dos estudios recientes centrados en la insuficiencia renal aguda tras el Alo-TPH analizaron la función renal basada en el FG pre-trasplante, pero no encontraron ninguna relación entre insuficiencia renal pre-trasplante y un posterior aumento de mortalidad [Parikh CR et al, 2004; Kersting S et al, 2007].

Fracaso renal agudo postrasplante

El FRA tras el Alo-TPH es una complicación frecuente en los primeros 100 días después del trasplante. La incidencia y el momento en el que ocurre el FRA post- Alo-TPH varía según la intensidad del régimen de acondicionamiento (Alo-TPH > Alo-TPH-AIR) utilizado. Además, la gravedad del FRA también difiere (Alo-TPH > Alo-TPH-AIR).

Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo

El primer estudio que analizó el FRA postrasplante fue realizado por Zager y cols del Fred Hutchinson en Seattle, WA, EE.UU [Zager RA et al, 1989] e incluyó 272 pacientes con neoplasias hematológicas (89% alogénicos, 11% autólogos). Este estudio reveló que el 53%

de los pacientes desarrollaron FRA definido como una duplicación de la cifra de creatinina sérica y la mediana de aparición del FRA fue de 14 días. Posteriormente, diversos estudios han analizado el desarrollo de FRA postrasplante [Parikh CR et al, 2002; Hahn T et al, 2003; Hingorani SR et al, 2005; Parikh CR et al, 2005; Kersting S et al, 2007; Lopes JA et al, 2006; Ando M et al, 2010; Hosing C et al, 2010]. La mayoría de ellos en el contexto del Alo-TPH mieloablatoivo [Parikh CR et al, 2002; Hahn T et al, 2003; Hingorani SR et al, 2005; Parikh CR et al, 2005; Kersting S et al, 2007]. En la mayoría de los casos, el FRA se produjo en los primeros 3 meses tras el trasplante con incidencias del 21% hasta el 73%.

Alo-TPH-AIR

Como se ha comentado previamente, el Alo-TPH-AIR se indica en pacientes de edad avanzada, debilitados por otras enfermedades concomitantes (co-morbilidad) o pacientes muy tratados que no tolerarían un Alo-TPH con acondicionamiento mieloablatoivo [Hermann S et al, 2001; Saito T et al, 2002; Niederwieser D et al, 2003; Blaise D et al, 2004; Belkacemi Y et al, 2007]. En este tipo de pacientes cabría esperar el desarrollo frecuente de FRA. Dado que en el Alo-TPH-AIR se utilizan regímenes de acondicionamiento menos tóxicos, los períodos de neutropenia son más cortos, hay menor incidencia de complicaciones infecciosas precoces y menor frecuencia de toxicidades orgánicas [Maris M et al, 2001], estos hechos podrían compensar el efecto de las comorbilidades, la edad y el mayor número de líneas de tratamiento previas y minimizar la incidencia de FRA [Diaconescu R et al, 2004]. Recientemente, varios estudios han evaluado la incidencia y el tiempo de aparición del FRA en el Alo-TPH-AIR [Hahn T et al, 2003; Parikh CR et al, 2005; Ando M et al, 2010; Kersting S et al, 2008; Lopes JA et al, 2008; Parikh CR et al, 2004; Liu H et al, 2007; Parikh CR et al, 2008; Liu H et al, 2010]. La incidencia de FRA tras Alo-TPH-AIR varió entre el 29% y 56% en función de la

definición utilizada y la gravedad de la alteración renal, y esta se produjo generalmente más tarde que en los regímenes mieloablativos. El tiempo para el desarrollo de FRA fue de 22 hasta 60 días, en la mayor parte de casos en el segundo mes del trasplante. La severidad del FRA fue mayor en el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo que en el Alo-TPH-AIR [Parikh CR et al, 2002; Parikh CR et al, 2004; Parikh CR et al, 2005; Kersting S et al, 2007; Kersting S et al, 2008; Ando M et al, 2010].

Tabla 8. Factores de riesgo de FRA en función de la intensidad del acondicionamiento.

Factor de riesgo	Alo-TPH	Alo-TPH-AIR	REFERENCIAS
SOS	X	X	Parikh CR et al, 2002; Hahn T et al, 2003; Hingorani SR et al, 2005; Liu H et al, 2010
Toxicidad pulmonar	X	-	Parikh CR et al, 2002
Paciente mujer	X	-	Parikh CR et al, 2005
Enfermedad de alto riesgo	X	-	Parikh CR et al, 2005
Comorbilidades	X	-	Parikh CR et al, 2005
Hipertension arterial	X	-	Kersting S et al, 2007
Ingreso previo en UCI	X	X	Kersting S et al, 2007; Parikh CR et al, 2004
EICH aguda	X	X	Hahn T et al, 2003
Uso de anfotericina	X	-	Hingorani SR et al, 2005
Creatinina basal baja	-	X	Kersting S et al, 2008
Reactivacion CMV	-	X	Kersting S et al, 2008
Diferencias HLA	-	X	Liu H et al, 2010
FG elevado pre-trasplante	-	X	Kersting S et al, 2008
TASP previo	-	X	Kersting S et al, 2008
Sepsis	-	X	Liu H et al, 2010
Ausencia de enfermedad vascular previa	-	X	Kersting S et al, 2008

Efecto del FRA en los resultados del trasplante alogénico

Los factores de riesgo identificados para el FRA varían en función de la intensidad del acondicionamiento (tabla 8). El desarrollo de FRA post trasplante incrementa el riesgo de padecer enfermedad renal crónica (ERC) [Weiss AS et al, 2006; Ando M et al, 2010; Hingorani S et al, 2007; Ishani A et al, 2009; Lo LJ et al, 2009]. La incidencia de ERC varía del 4% al 86% en función de la definición utilizada [Ellis MJ et al, 2008] y suele ocurrir durante el primer año postrasplante, con una incidencia mayor a la esperada en comparación con la población general [Lindeman RD et al, 1985]. Varios estudios han mostrado que el FRA en el Alo-TPH y Alo-TPH-AIR se asocia a un aumento de la mortalidad precoz y tardía [Giralt S et al, 2001; Parikh CR et al, 2002; Hahn T et al, 2003; Kersting S et al, 2007; Kersting S et al, 2008; Ando M et al, 2010; Parikh CR et al, 2004; Liu H et al, 2007; Parikh CR et al, 2008; Liu H et al, 2010; Lopes JA et al, 2008]. El motivo exacto de por qué el FRA se asocia a mayor mortalidad no se conoce del todo. Es posible que el FRA altere la metabolización de los fármacos, se asocie a fracaso de otros órganos y/o impida la utilización de fármacos a dosis plenas para el manejo de complicaciones infecciosas. Además el desarrollo de ERC postrasplante aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y predispone a la hipertensión arterial, factores que podrían explicar en parte la menor supervivencia a largo plazo en estos pacientes.

3.6.5 Características y etiología del FRA tras el trasplante alogénico

Las causas del FRA en el paciente Alo-TPH son múltiples como ocurre en la población general. Sin embargo en el paciente Alo-TPH existen numerosas características que no suelen compartir con la población general y que muy frecuentemente predisponen al FRA. Entre las causas no presentes generalmente en la población general se encuentran; la frecuente administración de fármacos con un importante perfil de nefrotoxicidad (agentes quimioterápicos, ra-

dioterapia, antimicrobianos, inmunosupresores, AINES, etc), la dificultad para mantener una constante y correcta hidratación (nauseas, vómitos, diarrea, mucositis, hiporexia, alteraciones del gusto, aumento de las pérdidas insensibles por procesos febriles, etc), la predisposición a procesos infecciosos por la inmunosupresión (reactivaciones y/o primoinfecciones de origen viral, infecciones bacterianas y fúngicas), el desarrollo de la microangiopatía asociada al trasplante y el advenimiento de fenómenos aloinmunes (EICH con afectación de órganos diana como la piel, el hígado, el pulmón, el tubo digestivo, las membranas serosas, el sistema musculoesquelético y por supuesto los riñones). Todas estas condiciones inherentes al Alo-TPH se encuentran fuertemente relacionadas entre sí, lo que aumenta la dificultad a la hora de establecer una causa única como la responsable o desencadenante del FRA en este contexto. A continuación se detallan las características y las causas más específicas de FRA en los Alo-TPH, resumidas en la tabla 9.

Toxicidad del acondicionamiento

La toxicidad renal producida por agentes quimioterápicos es variable en función de los fármacos utilizados. En pacientes que se trasplantan con enfermedad activa y voluminosa pueden desencadenar el síndrome de lisis tumoral, que es realmente infrecuente dado que en general el procedimiento está contraindicado en este contexto. La utilización de ICT en el acondicionamiento puede afectar a ambos riñones y según el volumen renal irradiado puede aparecer un cuadro de nefropatía tardía, caracterizado por proteinuria e hipertensión arterial que puede ser progresivo hasta el desarrollo de insuficiencia renal terminal [Cohen EP, 2003]. Las nuevas modalidades de ICT fraccionada junto a la mejora en la utilización de moldes protectores renales ha reducido significativamente la toxicidad renal por este motivo [Lawton CA et al, 1997]. Otros fármacos utilizados en el acondicionamiento y que son potencialmente ne-

frotóxicos son el carboplatino, ifosfamida, metotrexate, fludarabina y busulfan [Delgado J et al, 2006].

Tabla 9. Causas de FRA en el Alo-TPH en función de la afectación renal.

Origen	Causas
Pre-renal	
	Deshidratación (nauseas/vómitos, diarrea, mucositis)
	Síndrome de respuesta inflamatoria a las infecciones (SRIS)
	Fármacos (inhibidores de la calcineurina, AINES, IECAS)
	Síndrome hepatorenal (síndrome obstrucción sinusoidal hepática)
	Síndrome de permeabilidad capilar
	Insuficiencia cardíaca izquierda (serositis severa, derrame pericárdico severo)
Renal	
	Necrosis tubular aguda
	Isquemia (SRIS)
	Fármacos
	Nefritis intersticial aguda asociada a fármacos (antibióticos, alopurinol, AINES, diuréticos)
	Asociados a infección (pielonefritis, infección sistémica, CMV)
	Vascular
	Microangiopatía trombótica asociada al trasplante
	Trombosis de vena renal
Post-renal	
	Obstrucción de túbulos renales
	Síndrome de lisis tumoral / Nefropatía por uratos
	Precipitación tubular de fármacos (aciclovir, metotrexate)
	Obstrucción extra-renal (cistitis hemorrágica, fibrosis peritoneal, adherencias, obstrucción de la uretra)

Producto de infusión de progenitores hematopoyéticos

En casos de incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo entre donante y receptor, si previamente no se han retirado los hematíes y el plasma incluidos en el producto de infusión de PH, se puede producir una reacción hemolítica intravascular inmediata y grave por la reacción de los anticuerpos del paciente o del donante contra los glóbulos rojos del donante o del paciente respectivamente (como ocurre en la transfusión con incompatibilidad mayor ABO); ello produce necrosis tubular aguda por precipitación de fragmentos de hemoglobina con el subsiguiente desarrollo de FRA [Worel N et al, 2002].

El síndrome del linfocito pasajero (SLP) es una reacción hemolítica en donde los linfocitos del donante, infundidos junto a los progenitores hematopoyéticos, producen anticuerpos frente a los antígenos de los hematíes del receptor, lo que causa destrucción y hemólisis de los hematíes del paciente. Generalmente se producen anticuerpos frente al sistema ABO, aunque también se han descrito frente a otros antígenos sanguíneos: Rh, principalmente, así como frente a los sistemas Kell, Kidd y Duffy. El SLP se manifiesta transcurridas 1 a 3 semanas del trasplante y se asocia con signos bioquímicos de hemólisis (anemia, hiperbilirrubinemia, incremento de la bilirrubina indirecta, disminución de la haptoglobina, aumento de la LDH) y una prueba de Coombs directa positiva. La anemia suele ser leve pero, en ocasiones puede provocar una insuficiencia renal por el mismo mecanismo que la reacción transfusional con incompatibilidad de grupo, coagulación intravascular diseminada y fallo multiorgánico [Yazer MH et al, 2007].

El dimetil sulfóxido (DMSO) es un componente bioquímico que se utiliza para la conservación celular como crioprotector de los PH. Durante la infusión de los PH las células del paciente están expuestas al DMSO el cual puede causar hemólisis durante la infusión. Los derivados proteicos de la lisis celular pueden precipitar en la nefrona distal, donde se agregan

con la proteína de Tamm-Horsfall, y se producen cilindros tubulares y obstrucción tubular. Los pacientes tras la infusión pueden presentar náuseas, vómitos, dolor abdominal, dolor de cabeza, fiebre, hipotensión, y hemoglobinuria. El tratamiento se dirige a la protección de la función renal mediante hiperhidratación, utilización de diuréticos osmóticos (manitol) y alcalinización de la orina. La reducción de los volúmenes de infusión ha hecho que esta complicación sea infrecuente [Zager RA, 1994].

Síndrome de obstrucción sinusoidal hepático

Esta complicación hepática es una de las más clásicas en el trasplante de progenitores hematopoyéticos. Su incidencia en el Alo-TPH es muy variable. En algunas series son superiores al 50% tras acondicionamiento con ICT [McDonald et al. 1993], mientras que en el trasplante de intensidad reducida su incidencia es cercana a cero [Hogan et al. 2004]. El origen fisiopatológico es la desestructuración del sinusoides hepático, la posterior oclusión del flujo sanguíneo, anoxia, necrosis y finalmente fibrosis. La obstrucción del flujo sanguíneo produce como consecuencia hipertensión portal que se caracteriza por el desarrollo, en los primeros 20-30 días del trasplante, de hepatomegalia dolorosa, aumento de peso, ictericia, ascitis que en función de su severidad y del compromiso del flujo sanguíneo renal puede conducir al síndrome hepatorenal y fallo multiorgánico con una mortalidad del 80% [McDonald et al. 1993; Zager RA, 1994].

Infecciones

La afectación renal durante la sepsis es multifactorial: la hipovolemia por vasodilatación y el aumento de la permeabilidad capilar producen hipoperfusión renal e hipotensión. Estos fenómenos conducen a una vasoconstricción intrarrenal e inflamación mediada por la

tormenta de citoquinas y la actividad del complemento. Los agentes antimicrobianos generalmente utilizados pueden amplificar el daño renal produciendo necrosis tubular aguda o nefritis túbulo-intersticial asociada a la hipoperfusión renal.

Los fármacos más utilizados en este contexto y que pueden empeorar la función renal son los aminoglucósidos, beta-lactámicos, cotrimoxazol. Los antifúngicos como la amphotericina B (en sus diversas formulaciones) son especialmente nefrotóxicos, al igual que los fármacos que incluyen dextrina en su composición iv (Voriconazol). Entre los antivirales tanto el foscarnet como el ganciclovir y el aciclovir son nefrotóxicos por lo que exigirá ajustes de dosis diaria o evitar su uso en la medida de lo posible para evitar mayor toxicidad renal.

Entre las infecciones virales destacan dos virus con especial tropismo por el aparato nefro-urotelial como son los virus BK y ADV. Ambos virus se encuentran en el tejido renal y urotelial en fase de latencia. Cuando se reactivan y se replican activamente pueden producir nefritis intersticial manifestada en forma de FRA con alteración del sedimento urinario, proteinuria y cistitis hemorrágica severa que podría llevar a un cuadro de obstrucción de vías urinarias con el consiguiente daño renal obstructivo añadido. Sin embargo la etiología vírica de del FRA es muy compleja de detectar en el contexto del Alo-TPH debido a los requerimientos de biopsia renal que rara vez se realiza por el alto riesgo que conlleva. No obstante los hallazgos anatomopatológicos de las biopsias renales son muy característicos e incluyen la atrofia tubular y fibrosis con un infiltrado linfocítico inflamatorio. La presencia de cuerpos de inclusión intranucleares de virus BK es patognomónico de la nefropatía por virus BK [Mylonakis D et al, 2001]. De forma similar el CMV también puede estar implicado tanto en el daño renal como en la cistitis hemorrágica.

Otros virus que se han asociado a daño renal directo en forma de glomerulonefritis proliferativa endocapilar con o sin fenómenos de arteritis asociados son el VHZ, virus del

sarampión, virus de la parotiditis, virus Epstein Barr (VEB) y virus influenza y con un curso evolutivo similar a las glomerulonefritis agudas clásicas [Gallo GR et al, 1989]. Otras formas de afectación glomerular incluyen la glomerulonefritis focal y segmentaria en infecciones por parvovirus B19 [Moudgil A et al, 2001]. Otros ejemplos de afectación renal en el curso de infecciones víricas incluyen nefropatías túbulointersticiales en pacientes con infección por VEB, hantavirus, ecovirus, o casos aislados de mioglobinuria, coagulación intravascular y necrosis tubular aguda en el curso de infección por virus influenza [Ronco P et al, 1982; Morgasen JL, 1974].

Inmunodepresores

La utilización de inmunodepresores es imprescindible para la prevención de la EICH y para el éxito del Alo-TPH. La mayor parte de los estudios en Alo-TPH demuestran que los inmunodepresores y en concreto la ciclosporina A (CsA) son la principal causa de FRA en más de un tercio de los casos [da Silva JB et al, 2014]. La CsA es el inmunosupresor más utilizado y estudiado en el Alo-TPH. Además de su asociación con microangiopatía trombótica, los mecanismos exactos por los cuales los inmunodepresores como los inhibidores de la calcineurina o el sírolimus producen nefrotoxicidad todavía se desconocen. En modelos murinos se ha observado que la ciclosporina provoca insuficiencia renal por el incremento de la síntesis glomerular de radicales libres de oxígeno como son el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, el malonildialdehído y el tromboxano B2 (TXB2) [Coffman TM et al, 1987; Schnabel FR et al, 1991; Smith SR et al, 1993; Assis SM et al, 1997]. Estos hechos producen un aumento de la actividad de algunas sustancias vasoconstrictoras con la consiguiente disminución del FG secundaria a la vasoconstricción de la arteriola aferente. En receptores de trasplante renal se ha observado una disminución del FG en función de la dosis de ciclosporina.

Del mismo modo se ha relacionado niveles elevados de CsA y el desarrollo de FRA en el área del Alo-TPH [Hows JM et al, 1983; Kennedy MS et al, 1983]

Estudios en modelos animales han demostrado que la administración de vitamina E minimiza los efectos adversos de la CsA sobre la función renal [Parra T et al, 1998]. Esto apoya la idea de que la disminución aguda del FG inducida por la CsA está mediada por radicales libres de oxígeno y la consiguiente peroxidación lipídica que eleva los niveles de TXB2. Además ello apunta hacia un posible papel terapéutico de los antioxidantes en la prevención de la nefrotoxicidad por CsA [Parra T et al, 1998].

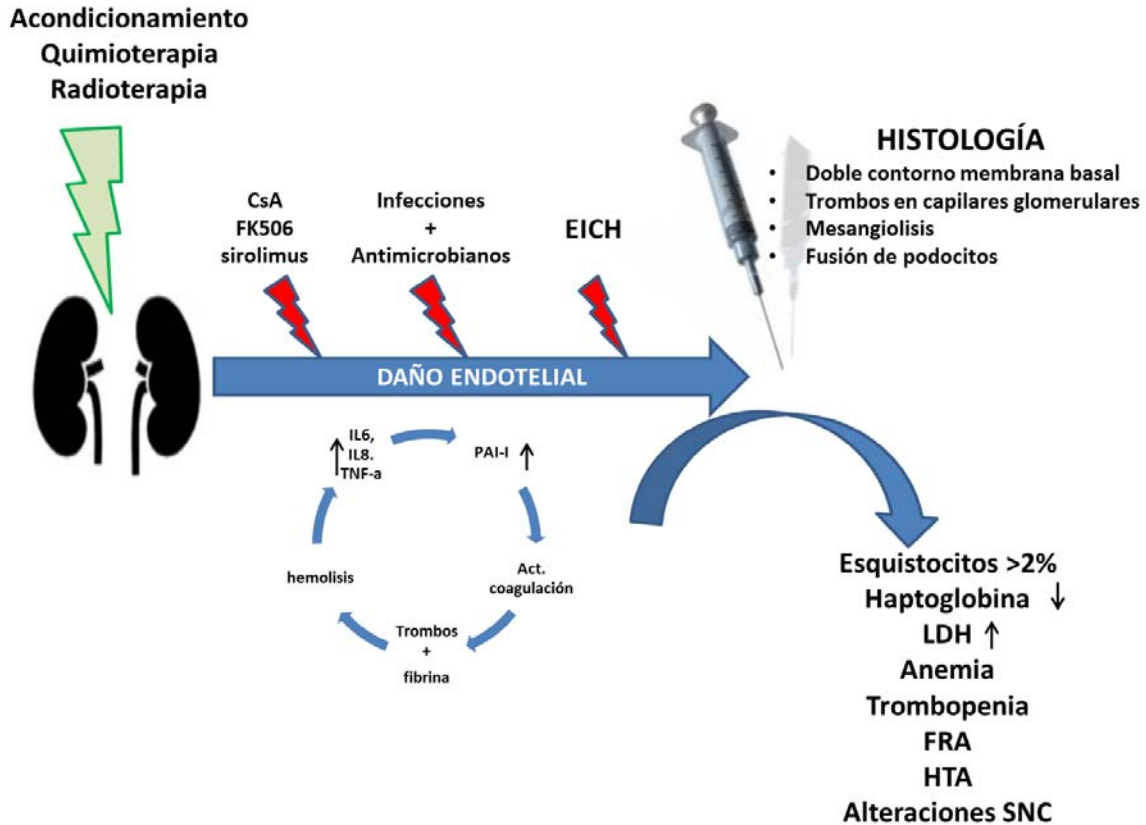
Microangiopatía trombótica asociada al trasplante (MAT)

La MAT es una complicación relevante en el Alo-TPH y constituye un problema diagnóstico y terapéutico. La incidencia de MAT es controvertida y oscila entre el 0% y el 76%. Esto se debe, en parte, a las diferencias en los criterios diagnósticos utilizados entre los diferentes estudios. La MAT es una enfermedad multifactorial con un espectro de presentación clínica que puede ir desde la púrpura trombótica trombocitopénica, el síndrome urémico hemolítico hasta una simple hemólisis sin repercusión en el hemograma ni en la función renal. Actualmente hay 2 directrices aceptadas para el diagnóstico de TMA. La primera la estableció la sociedad americana de trasplante “The toxicity committee of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network”. Los criterios [Ho VT et al, 2005] incluyen la presencia de más de 2% de esquistocitos, aumento de la deshidrogenasa de lactato (LDH), duplicación de la creatinina sérica o descenso del FG >50% y/o disfunción neurológica sin otras causas que los justifiquen, junto con una prueba de Coombs negativa. Del mismo modo se estableció una gradación de severidad de la MAT, desde el grado 1 con signos de hemólisis sin repercusión clínica, hasta el grado 4 en donde a parte de la evidencia de destrucción de hematíes hay re-

querimientos de diálisis y/o clínica de encefalopatía. En Cambio, el International Working Group surgido del EBMT y del grupo de LeukemiaNet [Ruutu T et al, 2007] variaron la definición y establecieron el dintel de esquistocitos por encima del 4%, mantuvieron el criterio de aumento persistente de la LDH y añadieron la presencia de trombopenia ($< 50 \times 10^9/\text{ml}$ o un descenso superior al 50%), la anemia progresiva o el aumento de los requerimientos transfusionales y el descenso de la haptoglobina.

La fisiopatología de la MAT difiere de la purpura trombótica trombocitopénica o del síndrome hemolítico urémico. Ni el déficit de ADAMS -13, ni las alteraciones en los niveles del factor de von Willebrand, ni la cascada del complemento han sido implicados en la MAT [Laskin BL et al, 2011]. En su lugar, la lesión endotelial causada por el régimen de acondicionamiento, la irradiación, la inmunosupresión, infecciones y la EICH tiene un papel fundamental en el desarrollo de la MAT (figura 10). La lesión endotelial activa la cascada de la coagulación conduciendo a la formación de trombos en los capilares renales con consumo de plaquetas y formación de fibrina que se traduce en una reducción de la luz arterial que a su vez provoca la fragmentación de hematíes con la consiguiente hemólisis [Laskin BL et al, 2011]. Se ha observado un aumento de los niveles del factor activador-inhibidor del plasminógeno secretado por células endoteliales, hepatocitos y plaquetas en pacientes trasplantados con MAT [Kanamori H et al, 1998]. A este hecho se le suma la posible asociación con un incremento de la secreción de citoquinas proinflamatorias como la IL6, IL8 y TNF- α [Seeber C et al, 1992].

Figura 10. Fisiopatología de la MAT en el trasplante. (Adaptado de Humphreys BD et al, 2005)



Los regímenes con quimioterapia que contienen busulfán y fludarabina, así como la ICT aumentan el riesgo de MAT tras el trasplante [Nakamae H et al, 2006; Kojouri K et al, 2007; Willems E et al, 2010]. Del mismo modo tanto los inhibidores de la calcineurina como el sirolimus así como la edad avanzada, el sexo femenino, disparidad HLA entre donante y receptor, el desarrollo de EICH, infecciones virales e infecciones fúngicas se han asociado al desarrollo de MAT severa [Pettitt AR et al, 1994; Zeigler ZR et al, 1995; Iacopino P et al, 1999; Fuge R et al, 2001; Ruutu T et al, 2002].

En cuanto al tratamiento, la primera medida de gran aceptación es la retirada de la inmunodepresión o el cambio por otros inmunodepresores no asociados a MAT como los esteroides o el micofenolato de mofetilo (MMF). Actualmente no existe evidencia de la eficacia de otras

modalidades de tratamiento. El recambio plasmático es generalmente poco efectivo con respuestas inferiores al 50% y con tasas de mortalidad superiores al 80% [Paquette R et al, 1995; Dua A et al, 1996; Llamas P et al, 1997; Roy V et al, 2001]. La experiencia con otras modalidades de tratamiento como el uso de defibrotide [Bayik MM et al, 1993; Pogliani et al, 2000] o más recientemente la administración de eculizumab son hasta el momento anecdóticas con respuestas variables [Jodele S et al, 2015].

Síndrome nefrótico asociado al Alo-TPH

El síndrome nefrótico es una complicación rara del Alo-TPH. Su incidencia varía entre el 3% al 6% [Colombo AA et al, 2006; Brukamp K et al, 2006; Nakashima H et al, 2007]. La afectación renal más habitual es la glomerulonefritis membranosa proliferativa seguida de la enfermedad renal de cambios mínimos [Kausman JY et al, 2007; S. Hingorani et al, 2006; Brukamp K et al, 2006; Romagnani P et al, 2005]. Suele ser una complicación tardía (media entre 6-12 meses) aunque se ha descrito en los primeros 3 meses tras la infusión de progenitores. La etiología no está clara, parece que la EICH crónica, la infección por CMV, la MAT y la radioterapia del acondicionamiento influyen sustancialmente en el desarrollo de esta complicación [S. Hingorani et al, 2006; Brukamp K et al, 2006; Hitoshi Nakashima, 2007; Chang A et al, 2007]. Diversos investigadores han considerado esta complicación como una manifestación de la EICH crónica por el hecho de que esta suele coincidir con la suspensión de la inmunodepresión y el desarrollo de EICH crónica [Rao PS et al, 2005; Reddy P et al, 2006; S. Hingorani et al, 2006]. Modelos murinos de EICH crónica han demostrado que el riñón es una diana de la EICH en forma de síndrome nefrótico [Luo XD et al. 2011] aunque esta asociación es más controvertida en los humanos [S. Hingorani et al, 2006; Brukamp K et al, 2006]. Un interesante estudio analizó marcadores inflamatorios y subpoblaciones de linfo-

citos T en pacientes Alo-TPH con síndrome nefrótico y los comparó con pacientes sin esta complicación. Los pacientes con síndrome nefrótico presentaban de forma significativa un menor número de linfocitos T reguladores y un aumento de IFN-gamma y TNF-a. Estos hallazgos apoyan el origen aloinmune del síndrome nefrótico postrasplante [Luo XD et al. 2011]. La mayoría de los pacientes que desarrollaron el síndrome nefrótico tras Alo-TPH fueron tratados con inmunodepresores y/o corticoides con resolución del cuadro [Brukamp K et al, 2006; Luo XD et al, 2011].

Enfermedad renal crónica en ALO-TPH

La enfermedad renal crónica (ERC) se define por una cifra de creatinina sérica elevada o una disminución del FG ($< 60 \text{ ml / min / } 1,73 \text{ m}^2$), durante 3 o más meses [National Kidney Foundation, 2002]. El daño renal se define por anomalías estructurales o funcionales de los riñones, y puede manifestarse como alteraciones estructurales, alteraciones de imagen o anomalías en la composición de la sangre y/o de la orina, como la proteinuria. La incidencia de ERC en pacientes receptores de un Alo-TPH se sitúa entre el 13% y el 66% [Cohen EP et al, 1995; Weiss AS et al, 2006; Hingorani S et al, 2007; Hingorani S et al, 2005]. El desarrollo de ERC suele suceder a los pocos meses del Alo-TPH aunque se ha descrito incluso a los 10 años del trasplante [Leung W et al, 2007; Ando M et al 2010] y se ha asociado a un incremento de la mortalidad [Cohen EP et al, 1998]. El FRA suele ser la primera manifestación y todas las causas mencionadas anteriormente se han identificado como factores de riesgo de ERC tras el trasplante. La participación de especialistas en nefrología para el manejo de estos pacientes es fundamental [Abboud I et al, 2012] de cara a preservar y/o retrasar al máximo la ERC terminal.

3.7 Alteraciones neurológicas en el Alo-TPH

3.7.1 Generalidades

Las alteraciones neurológicas en el trasplante alogénico son igualmente una importante y frecuente causa de morbilidad y mortalidad. La enorme heterogeneidad y complejidad de las mismas sumada a la dificultad en la interpretación de los numerosos síntomas y signos de origen neurológico hacen que su estudio sea muy importante. La mayor parte del conocimiento de las complicaciones neurológicas deriva de estudios en el contexto del TASP y del Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo, y son particularmente escasos los datos disponibles en el Alo-TPH-AIR. La incidencia de complicaciones neurológicas varía entre el 11% y el 59%, en función de las definiciones utilizadas [Rodríguez TE, 2013; Rosenfeld MR et al, 2006]. Un estudio prospectivo de 180 autopsias de pacientes que habían recibido un trasplante hematopoyético (177 alogénicos, 3 autólogos) detectó anomalías neuropatológicas en más del 90% de los casos. Los hallazgos más frecuentes fueron: hemorragia subaracnoidea (32%), hemorragia intraparenquimatosas (27%), infecciones fúngicas (9%) y con menor frecuencia encefalopatía de Wernicke, encefalopatía nodular microglial y neurotoxoplasmosis [Bleggi-Torres LF et al, 2000]. Estos datos fueron similares a los encontrados en otro estudio previo realizado en autopsias de 109 pacientes [Mohrmann RL et al, 1990]. Pese a la elevada frecuencia de estos hallazgos a menudo no se distinguió entre los hallazgos clínicamente significativos y los silentes no diagnosticados, lo que pone de manifiesto la importancia del problema.

3.7.2 Definición y momento de presentación

Es evidente que el estudio diagnóstico de las complicaciones neurológicas debe basarse en la presencia de síntomas y signos. La gran variedad de cuadros clínicos de características leves o moderadas que pueden deberse causas no neurológicas, a menudo multifactoriales, hacen complejo establecer el origen de las mismas. De cara a identificar estas complicaciones es sumamente importante definir los cuadros neurológicos. Las definiciones más ampliamente utilizadas en el contexto del trasplante alogénico se resumen en la tabla 10. Se diferencia entre las del sistema nervioso central (SNC) y las del periférico (SNP). Cinco grandes grupos componen los síndromes que afectan al SNC. En las del SNP la diferenciación es anatómica y se basa en la afectación de uno (mononeuropatías) o varios nervios (polineuropatías). El momento del trasplante en el que se presentan las complicaciones puede ayudar a orientar el estudio diagnóstico inicial. El periodo de acondicionamiento es cuando las complicaciones neurológicas suelen ser de origen yatrogénico. La administración de fármacos como quimioterápicos y/o radioterapia puede producir encefalitis tóxica o polineuropatía periférica. En la fase de aplasia medular las hemorragias y las meningitis infecciosas son las complicaciones predominantes y en el periodo tardío las complicaciones neurológicas suelen ser consecuencia de un estado de inmunodepresión profundo derivado de la EICH y/o de su tratamiento prolongado lo que aumenta el riesgo de procesos infecciosos, tóxicos y/o metabólicos (figura 11).

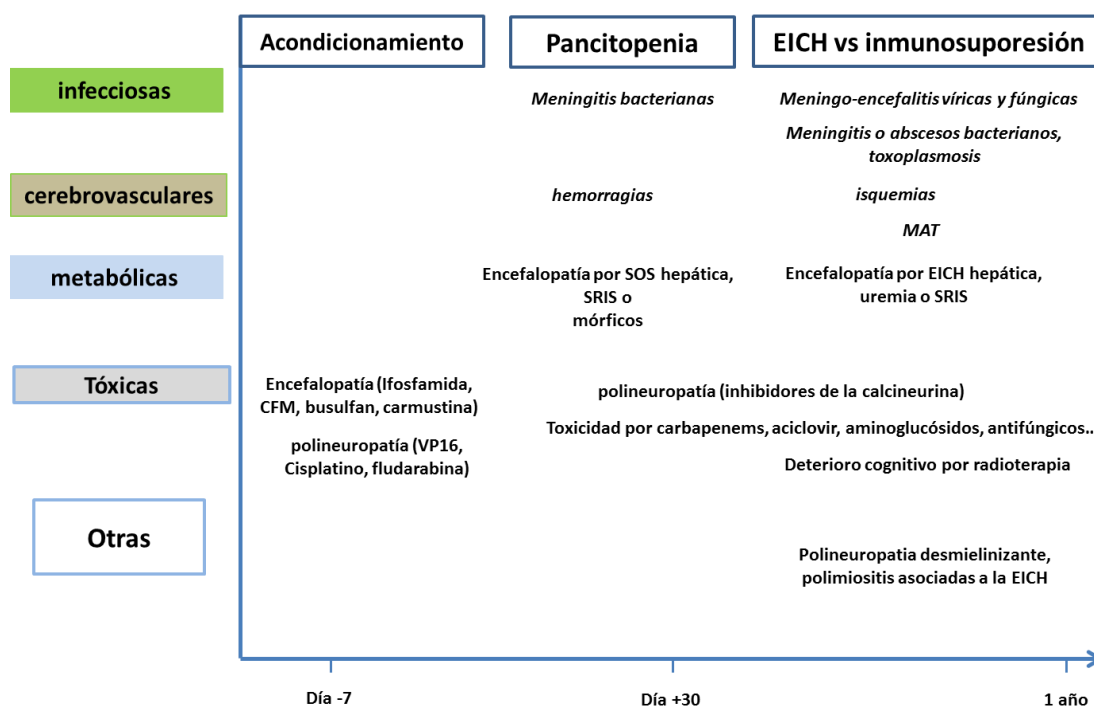
Tabla 10. Definición y diagnóstico de las alteraciones neurológicas en el Alo-TPH.

COMPLICACION	DEFINICIÓN	DIAGNÓSTICO
Sistema Nervioso Central (SNC)		
MENINGO-ENCEFALITIS	- Fiebre o síntomas de encefalopatía focal / no focal - LCR compatible con infección - Evidencia microbiológica o ausencia de otra causa	Estudios de neuroimagen Análisis de LCR
CEREBRO-VASCULAR	- Síndrome neurológico focal de súbita aparición - Estudios de neuroimagen sugestivos de infarto o de hemorragia intracraneal	Estudios de neuroimagen
ENCEFALOPATIA TOXICO-METABOLICA	-Alteración difusa de funciones superiores (+/- convulsiones o disminución del nivel de consciencia) -Evidencia de etiología tóxica o infecciosa -Ausencia de síntomas o resultados sugestivos de otra etiología	Estudios de neuroimagen Análisis de laboratorio Análisis de LCR o EEG
CONVULSIONES IDIOPÁTICAS	-Evidencia clínica de convulsiones -Ausencia de cualquier otra causa mediante pruebas complementarias	Estudios de neuroimagen Análisis de laboratorio Análisis de LCR o EEG
OTRAS	-Eventos neurológicos no incluidos en otras categorías	
Sistema Nervioso Periférico (SNP)		
MONONEUROPATÍA	-Alteraciones motoras o sensitivas correspondientes a un par craneal o nervio periférico -Confirmación por electroneurograma (ENG) si necesario/posible	ENG
POLINEUROPATÍA	-Alteraciones motoras o sensitivas correspondientes a múltiples pares craneales o nervios periféricos -Confirmación por ENG si necesario/posible	ENG

3.7.3 Síntomas y síndromes neurológicos y sus causas

Las manifestaciones clínicas son muy diversas y no siempre de origen neurológico. Este hecho explica en parte la diferente incidencia en los estudios. Síntomas como el temblor, la cefalea, la debilidad por miopatía esteroidea o del paciente crítico (muy frecuentes en los receptores de Alo-TPH), los cuadros de obnubilación y/o de disminución del nivel de conciencia en el contexto de hepatopatía severa o el fracaso multiorgánico no suelen considerarse complicaciones neurológicas puras. Síntomas neurológicos cognitivos, leves pero frecuentes, como la pérdida de memoria reciente, la dificultad en la concentración, la irritabilidad o cuadros psiquiátricos diversos (síndromes ansioso-depresivos) suelen pasar desapercibidos o considerarse inherentes a la agresividad del procedimiento, por lo que generalmente no se reportan ni estudian en profundidad.

Figura 11. Complicaciones neurológicas en función del momento de presentación. (Adaptado a partir de Thomas' hematopoietic stem cell transplantation, 4º edición).



Además, los receptores de Alo-TPH suelen haber recibido quimioterapia previa potencialmente neurotóxica, especialmente para el SNP, y una buena parte de ellos suelen presentar síntomas leves previos al trasplante como disestesias o parestesias. Todo ello aumenta la dificultad de su identificación en el periodo postrasplante.

Los síntomas de afectación del sistema nervioso central (SNC) son muy variados. El espectro va desde déficit motores focales, multifocales hasta la disfunción generalizada del SNC definida como la aparición de delirium (síndrome de alteración mental transitoria de presentación aguda que se caracteriza por deterioro global de las funciones cognitivas, disminución del nivel de conciencia, anomalías en la atención y en la conducta, aumento o disminución de la actividad psicomotora, y desorden de los ciclos de sueño-vigilia) y/o convulsiones. La disfunción del SNC es una complicación relativamente común después del trasplante. Un estudio realizado por Fann y cols demostró que el 50% de los receptores de un Alo-TPH experimen-

tan, en diferente grado, un episodio de delirium persistente en las primeras 4 semanas siguientes al trasplante [Fann JR et al, 2002]. El origen anatómico de la afectación del SNC que conduce al delirium puede sobrevenir de pares craneales, de la médula espinal, del tronco encéfalo, de las meninges y/o del parénquima cerebral. La potencial etiología de la disfunción del SNC es múltiple y va desde el origen farmacológico, infeccioso, metabólico, cerebrovascular, tumoral, traumático e idiopático.

3.7.4 Fármacos con toxicidad neurológica comúnmente empleados en el Alo-TPH

-Busulfan: este fármaco produce encefalopatía reversible con somnolencia, confusión, o una disminución en el estado de conciencia, mioclonías, dolor de cabeza y alucinaciones. Las convulsiones se producen en aproximadamente el 10% de los pacientes. El uso profiláctico de antiepilépticos es muy recomendable) [De La Camara R et al, 1991].

-Carboplatino: presenta como efectos secundarios ototoxicidad severa en más del 80% de los niños con neuroblastoma, en particular si se asocia a la exposición previa a otros potenciales ototóxicos [Parsons SK et al, 1998].

-Carmustina: produce disminución de agudeza visual afectando al nervio óptico y retina. Mayor incidencia cuando se utilizan dosis altas ($> 1.500 \text{ mg / m}^2$) que pueden producir encefalopatía irreversible [Burger PC et al, 1998].

-Arabinósido de citosina: afecta sobre todo al cerebelo y puede originar encefalopatía difusa en forma de letargo, confusión y convulsiones. Con menos frecuencia, la encefalopatía ocurre sin clínica cerebelosa [Baker WJ et al, 1991].

-Etopósido: produce cuadros confusionales agudos en forma de somnolencia y convulsiones; suele resolverse espontáneamente [Leff RS et al, 1988].

-Ifosfamida: responsable de encefalopatía con letargo, confusión y convulsiones en 10% a 40% de los pacientes; más comúnmente afecta a niños y a pacientes con disfunción renal [Pratt CB et al, 1990]. También se puede manifestar en forma de mioclonías, o rigidez muscular [DiMaggio JR et al, 1994]. Suele ser de carácter autolimitado aunque puede progresar a un estado comatoso. El diazepam intravenoso y el azul de metileno pueden utilizarse como tratamiento o profilaxis [Pelgrims J et al, 2000].

-Metotrexato: La administración intratecal puede resultar en la aparición aguda de cefalea por irritación meníngea o producir un síndrome mielo-radicular reversible.

-Tiotepa en dosis mieloablativa. Se ha asociada a encefalopatía crónica con deterioro cognitivo progresivo y alteraciones del comportamiento.

-Fludarabina: entre las alteraciones neurológicas destacan neuropatía periférica, agitación, confusión, alteraciones visuales, convulsiones y coma. Las dosis elevadas se han relacionado con encefalopatía progresiva, ceguera y muerte.

-Inmunodepresores: esteroides e inhibidores de la calcineurina

El uso de corticosteroides está asociado a una gran variedad de complicaciones neurológicas.

Muchos pacientes desarrollan una miopatía inducida que puede aparecer a las 2 ó 3 semanas

después de iniciar el tratamiento. No parece haber una relación directa con la dosis acumulativa, la dosis media diaria y la duración de tratamiento [Batchelor TT et al, 1997]. La miopatía se caracteriza por debilidad muscular proximal, más notable en las caderas. El cese de los corticoides por lo general se asocia a una mejora, que puede tardar meses. Los corticoides pueden causar síntomas psiquiátricos, incluidos ansiedad, insomnio, alteraciones de la memoria y cambios en el estado de ánimo. El síndrome de abstinencia de corticoides incluye mialgias, artralgias, dolor de cabeza, letargo y náuseas con o sin fiebre.

La ciclosporina y el tacrolimus producen alteraciones neurológicas similares [Freise CE et al, 1991]. Se ha observado que la administración previa de irradiación craneal, las dosis altas de corticoides, la hipertensión y la uremia aumentan la toxicidad del SNC de estos agentes [Reece DE et al, 1991]. El efecto secundario más común de estos fármacos es el temblor, que se produce en hasta un 40% de los pacientes, seguido de parestesias en el 11% [Walker RW et al, 1988]. Estos síntomas por lo general no requieren tratamiento y a menudo desaparecen si se disminuye la dosis del fármaco. Convulsiones aisladas se han reportado en hasta un 5% de los pacientes tratados con ciclosporina y pueden estar asociadas a hipomagnesemia. Otras manifestaciones neurológicas incluyen síntomas de parkinsonismo, ataxia y distonías. Una complicación poco común de la utilización de cualquiera de estos agentes y otros inmunodepresores es el síndrome de leucoencefalopatía posterior reversible (SLPR). Este síndrome se caracteriza por la aparición subaguda del dolor de cabeza, confusión, visión borrosa o pérdida de la visión, alucinaciones visuales, convulsiones y déficit motor. El estudio de neuroimagen demuestra edema de la sustancia blanca más comúnmente en regiones occipital-parietal simétricas. El síndrome se cree que el resultado de una alteración en la regulación vascular cerebral que conduce a edema vasogénico [Hinchey J et al, 1996]. Es importante señalar que SLPR puede ocurrir incluso en presencia de niveles en rango terapéutico. El me-

canismo fisiopatológico exacto de la toxicidad de ambos fármacos es desconocido, un estudio sugiere que el mecanismo subyacente a la neurotoxicidad es un efecto directo sobre las células endotelial de los capilares del cerebro conduciendo a la apoptosis [Kochi S et al, 2000].

-Antimicrobianos: muchos de los fármacos utilizados durante este período como profilaxis o tratamiento de las infecciones están asociados a neurotoxicidad. Antibióticos como el cefepime o imipenem se asocian a convulsiones y estado de letargia. La anfotericina-B puede provocar temblor, confusión, y parkinsonismo.

-Mórficos y tratamientos de soporte: Otros fármacos comúnmente utilizados como tratamiento de soporte durante el periodo inicial del trasplante tales como opiáceos (cloruro mórfico para el manejo de la mucositis) o anti-eméticos (metoclopramida) tienen una reconocida toxicidad neurológica pudiendo producir cuadro de disminución del nivel de conciencia, alucinaciones, clínica extrapiramidal o coma.

3.7.5 Infecciones

Las infecciones sistémicas graves acompañadas del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) son responsables de la encefalopatía por sepsis, produciendo alteración de la atención, la orientación, la concentración y la escritura [Young GB et al, 1990]. En los casos graves, el paciente puede desarrollar delirium y coma. Las manifestaciones focales son poco frecuentes. El diagnóstico de encefalopatía relacionada con el estado de SRIS requiere de la exclusión de otras posibles etiologías, como la encefalopatía inducida por fármacos, hipoxemia, hipotensión, retirada de sedantes u opiáceos, alteraciones electrolíticas, la uremia y encefalopatía de Wernicke [Jacobone E et al, 2009].

Del mismo modo, los procesos infecciosos pueden afectar directamente al sistema nervioso y producir cuadros de meningo-encefalitis, mono o polineuropatía periférica, cuadros de déficit sensitivo-motor focal o de encefalopatía difusa. Aparte de las meningitis bacterianas y fúngicas, los virus tienen un papel preponderante en estos pacientes y son especialmente difíciles de diagnosticar. A continuación se resumen los agentes microbianos más frecuentemente involucrados en este contexto.

Virus:

-*Virus humano del herpes 6 (HHV-6)*: su reactivación en pacientes Alo-TPH es frecuente y precoz. Puede ser el responsable de lesiones del lóbulo temporal, pérdida de la memoria y delirium. El diagnóstico se basa en la PCR en líquido cefalorraquídeo (LCR). El ganciclovir parece ser activo frente a esta infección.

-*Virus herpes simplex 1 y 2 (VHS)*: pueden producir afectación neurológica del SNC de forma ocasional y afecta también al lóbulo temporal. El uso de aciclovir profiláctico ha reducido la incidencia de esta complicación.

-*Virus varicela zoster (VZV)*. Su incidencia es muy frecuente cuando consideramos la afectación del sistema nervioso periférico, con incidencia en torno al 10-44% [Locksley RM et al, 1985; Han CS et al, 1994; Koc Y et al, 2000] en función del periodo de seguimiento analizado. El uso de profilaxis con aciclovir parece reducir la incidencia precoz, pero no hay datos a largo plazo y tras la suspensión de la misma. El VZV causa encefalitis de forma ocasional en pacientes seropositivos o después de una exposición a un paciente con primoinfección.

-*CMV*. La afectación neurológica por *CMV* más frecuente es la retinitis.

-*Virus Epstein Barr (VEB)*; la reactivación del *VEB* ha sido muy difícil de diagnosticar hasta la utilización rutinaria de técnicas moleculares como la PCR. La afectación neurológica por este agente suele estar relacionada con el desarrollo de síndromes linfoproliferativos postrasplante que parecen tener un tropismo por el SNC [Gallardo D et al, 1996; Martinez AJ, 1998].

-*Enterovirus (poliomavirus, coxsackie A y B y echovirus)*. Pueden producir meningoencefalitis sobre todo en pacientes pediátricos. El diagnóstico es complejo y suele requerir el estudio de la PCR en LCR en laboratorios especializados.

-*Virus del Nilo Occidental (WNV)*. Pueden ser causa de debilidad neuromuscular o meningoencefalitis. Su incidencia es muy poco frecuente y puede transmitirse a partir de los componentes sanguíneos de los donantes. La PCR del LCR es poco sensible.

-*Virus JC*. Este virus es el responsable de la leucoencefalopatía multifocal progresiva con un pronóstico ominoso. El diagnóstico se basa en los estudios de neuroimagen (alteraciones de la señal en la sustancia blanca en RNM cerebral) y en la PCR del LCR.

Parásitos:

-*Toxoplasma gondii*. Inicialmente se creía que la enfermedad con afectación neurológica por toxoplasma era extremadamente rara en el Alo-TPH. Con métodos de diagnóstico moleculares como la PCR se ha observado una afectación frecuente por este agente [Martino R et al, 2000; Martino R et al, 2005]. El diagnóstico se realiza mediante estudio de neuroimagen en

donde se pueden observar lesiones captantes en anillo en el parénquima cerebral y con la PCR en suero. La PCR del LCR es poco sensible.

Hongos:

Aspergillus spp y otros mohos con diseminación hematológica tras la angiainvasión pueden anidar en el SNC y producir abscesos cerebrales. Otros agentes como el *cryptococcus neoformans* pueden originar ocasionalmente un cuadro de meningo-encefalitis e hidrocefalia. El diagnóstico se realiza mediante la detección del antígeno del *cryptococcus* en el LCR y la determinación del antígeno de galactomanano en el LCR.

Bacterias:

Las más habituales son *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, bacilos gram negativos, *Nocardia spp*, tuberculosis, etc. Producen cuadros de meningitis o formación de abscesos cerebrales.

3.7.6 Metabólicas

Las causas más frecuentes de encefalopatía metabólica en los receptores de un Alopriolol (Alo-TPH) son la sepsis y el uso de medicamentos sedantes-hipnóticos [Openshaw H et al, 1999]. La encefalopatía en el contexto de fracaso multiorgánico se asocia a disfunción hepática, renal, pulmonar, cardíaca, etc. A diferencia de la encefalitis séptica, el fracaso de múltiples órganos, la hipotensión y otros fenómenos sistémicos caracterizan este síndrome. Los mediadores inflamatorios parecen afectar directamente a las funciones cerebrales, aunque también se ha relacionado este cuadro con la respuesta citotóxica de las células del cerebro desencadenada por mediadores de la inflamación [Papadopoulos MC et al, 2000]. Síntomas como asteri-

xis, temblores y mioclonias multifocales presentes en la encefalopatía del fracaso multiorgánico son poco frecuentes en la sepsis.

3.7.7 Cerebro-vasculares

Para un paciente con hallazgos neurológicos focales la mayor sospecha es hemorragia o isquemia. Los hematomas subdurales son más comunes que la hemorragia intraparenquimatosa y por lo general se presentan con cefalea intensa, persistente y a veces pueden manifestarse en forma de convulsiones. El factor de riesgo más importante es la trombopenia. Se ha sugerido que factores adicionales como el daño endotelial capilar debido a la utilización de agentes alquilantes pueden contribuir al desarrollo de hemorragias. Las hemorragias intraparenquimatosas son menos frecuentes. En raras ocasiones, los pacientes con trombocitopenia prolongada desarrollan mononeuropatía debida a hemorragia intraneural. También existe el riesgo de hematomas subdurales espinales tras la punción lumbar. Entre los cuadros cerebrovasculares de origen isquémico se incluye la MAT.

3.7.8 Tumorales

Las recaídas de la enfermedad de base tras el Alo-TPH aparecen en ocasiones en el SNC. Para el diagnóstico es necesario un alto índice de sospecha junto con la confirmación histológica. En muchos casos el hallazgo es post-mortem [Bleggi-Torres LF et al, 2000].

3.7.9 Otras

Debe profundizarse en el estudio de cuadros tardíos de demencia, pérdida de memoria y alteraciones de la conducta en el contexto del Alo-TPH y de origen no aclarado para incrementar el conocimiento y poder actuar frente a ellos.

3.7.10 Factores de riesgo e impacto de las complicaciones neurológicas en los resultados del Alo-TPH

Entre los factores de riesgo identificados se incluyen el tipo de trasplante, el estado de la enfermedad de base, la intensidad del acondicionamiento, la leucemia mieloblástica aguda, la EICH, el uso de CsA, el uso de alemtuzumab, el sexo femenino, el uso de sangre de cordón umbilical como fuente de progenitores hematopoyéticos y la ICT como parte de acondicionamiento [Siegal D et al, 2007; Avivi I et al, 2004; Weber C et al, 2008]. El desarrollo de complicaciones neurológicas en el Alo-TPH contribuyen a la morbilidad o la mortalidad en el 60% de los receptores de trasplante alogénico y son la principal causa de muerte en el 10% al 15% [Garrick R, 2000; Uckan D et al, 2005]- La aparición de estas complicaciones se asocia a menor supervivencia global [Siegal D et al, 2007; Fann JR et al, 2001] y también afectan de manera significativa a la calidad de vida de los pacientes [Antonini G et al, 1998; Siegal D et al, 2007; Sostak P et al, 2003].

Por lo tanto es importante reconocer los cuadros y/o síntomas neurológicos mayores y es imprescindible contar con el apoyo de especialistas en neurología y debe realizarse una valoración pre-trasplante y otra postrasplante. El trabajo multidisciplinar y la evaluación neurológica prospectiva de los receptores de trasplante pueden incrementar la identificación de complicaciones y secuelas neurológicas hasta en el 65% de los pacientes alotrasplantados [Sostak P et al, 2003].

4. JUSTIFICACIÓN DE LA UNIDAD TEMÁTICA DEL PROYECTO

La presente tesis doctoral recoge los resultados de cinco estudios publicados en 3 revistas internacionales especializadas en el trasplante de PH. Todos los trabajos comparten un nexo común; el análisis de las complicaciones orgánicas (respiratorias, renales y neurológicas) en una misma cohorte homogénea de pacientes que recibieron un Alo-TPH-AIR sin ICT. El primer trabajo evaluó las alteraciones de la función pulmonar pre-trasplante y analizó el desarrollo de complicaciones pulmonares infecciosas y no infecciosas. El segundo trabajo analizó las infecciones víricas y fúngicas del aparato respiratorio en la misma cohorte de pacientes. El tercer trabajo evaluó el papel de la función renal y sus complicaciones en el Alo-TPH-AIR. El cuarto trabajo se centró en las complicaciones neurológicas en la misma cohorte de pacientes. Finalmente el quinto trabajo, presentado como anexo en la presente tesis doctoral, describió la incidencia de enfermedad pulmonar, gastro-intestinal y neurológica por CMV en la misma población de receptores de Alo-TPH-AIR.

El ámbito elegido, el Alo-TPH-AIR, tiene un especial interés en la medida en que, como se ha comentado previamente, los pacientes que reciben este tipo de procedimiento suelen ser de mayor edad, presentan mayor número de comorbilidades, han recibido un mayor número de líneas de tratamiento previas y/o presentan por lo general enfermedades de alto riesgo, lo que les podría conferir mayor susceptibilidad a complicaciones orgánicas y menor capacidad de recuperación tras las mismas. Con todo, el estudio de la función y complicaciones orgánicas tiene un interés específico en esta población, dado que existen pocos datos dis-

ponibles en la literatura al respecto y permitirá determinar con mayor propiedad la tolerancia de este grupo de pacientes a un procedimiento como el Alo-TPH-AIR.

En el primer trabajo, sobre las alteraciones de la función pulmonar evaluada mediante PFR pre-trasplante, se analiza su valor predictivo sobre los resultados del Alo-TPH-AIR en una población de 188 pacientes de un solo centro. La alteración de la función pulmonar fue la comorbilidad más frecuente y predijo tanto el desarrollo de complicaciones pulmonares como la mortalidad relacionada con el trasplante y la supervivencia. Este trabajo permitió además una detallada descripción de las causas y la estimación de las incidencias de las complicaciones pulmonares, tanto infecciosas como no infecciosas y como estas afectaron los resultados del trasplante.

El segundo trabajo analizó las características, etiología, incidencia y epidemiología de las infecciones del aparato respiratorio de origen vírico y fúngico en una cohorte de 213 receptores de Alo-TPH-AIR. Este mismo trabajo analizó la relación entre ambas etiologías y estableció que las IRVB por VRC, a parte de favorecer el desarrollo posterior de la API, tuvieron un impacto negativo en la mortalidad del Alo-TPH-AIR.

El tercer trabajo realizado en la misma cohorte de pacientes que recibió un Alo-TPH-AIR (n= 188), describió y analizó el papel de la alteración de la función renal en los resultados del procedimiento. Se analizó el papel de la insuficiencia renal pre-trasplante en el desarrollo posterior de FRA postrasplante, a la vez que se investigaron los factores de riesgo para el desarrollo de FRA y el efecto que tuvo esta complicación en los resultados del Alo-TPH-AIR. Se realizó asimismo una descripción detallada de las causas de FRA en este contexto.

En el cuarto trabajo, se analizaron las características, la incidencia y los factores de riesgo de complicaciones neurológicas (tanto del SNC como del SNP) en la misma población de pacientes trasplantados y como éstas afectaron la supervivencia global.

Finalmente, el quinto trabajo se centró en el CMV en el contexto del Alo-TPH-AIR en la misma cohorte de pacientes. Se constató la incidencia de reactivación de CMV y el desarrollo de enfermedad orgánica por CMV.

Cada uno de estos trabajos aportó información detallada y original sobre el papel de cada uno de los órganos evaluados en el Alo-TPH-AIR; su conjunción en esta tesis permite una visión global de la importancia de estas complicaciones en el Alo-TPH-AIR superando la suma de las partes.

Estos trabajos, son fruto de un contrato de formación en investigación otorgado por el Instituto de Salud Carlos III (CM06/00139, Ministerio de Sanidad) al autor de la presente tesis y que cursó desde diciembre de 2006 hasta mayo de 2009.

5. OBJETIVOS

Objetivo global

El objetivo principal de esta tesis fue analizar las características e incidencia de las diferentes complicaciones orgánicas del Alo-TPH-AIR y como éstas afectaron a los resultados del procedimiento.

Objetivos específicos

2. Analizar la frecuencia y características de las alteraciones de la función pulmonar y su valor predictivo en las complicaciones pulmonares y en la mortalidad en pacientes que recibieron un Alo-TPH-AIR.
3. Describir la incidencia, etiología y características de las complicaciones pulmonares no infecciosas e infecciosas en el Alo-TPH-AIR.
4. Analizar la frecuencia y características de las alteraciones de la función renal y su valor predictivo en las complicaciones renales y en la mortalidad en pacientes que recibieron un Alo-TPH-AIR.
5. Describir la incidencia, etiología, características y efectos de las complicaciones renales en el Alo-TPH-AIR.
6. Describir la incidencia, etiología, características y efectos de las complicaciones neurológicas en el Alo-TPH-AIR.
7. Determinar la epidemiología de la enfermedad pulmonar y neurológica por CMV y su impacto en la supervivencia en el Alo-TPH-AIR.

6. RESULTADOS

6.1 **Artículo 1:** Piñana JL, Martino R, Barba P et al. Pulmonary function testing prior to reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in an unselected patient cohort predicts post-transplantation pulmonary complications and outcome. *Am J Hematol.* 2012; 87 (1): 9-14.

6.2 **Artículo 2:** Martino R, Piñana JL, Parody R et al. Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 44 (11): 749-56.

6.3 **Artículo 3:** Piñana JL, Valcárcel D, Martino R et al. Study of kidney function impairment after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. A single-center experience. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009; 15 (1): 21-9.

6.4 **Artículo 4:** Barba P, Piñana JL, Valcárcel D et al. Early and late neurological complications after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 Nov; 15 (11):1439-46.

6.5 **Artículo Anexo 1:** Piñana JL, Martino R, Barba P et al. Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: single-centre experience. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45 (3): 534-42.

6.6 Artículo 1

Pulmonary function testing prior to reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in an unselected patient cohort predicts post-transplantation pulmonary complications and outcome.

Piñana JL, Martino R, Barba P, Bellido-Casado J, Valcárcel D, Sureda A, Briones J, Brunet S, Rodriguez-Arias JM, Casan P, Sierra J.

American Journal of Hematology. 2012; 87 (1): 9-14.

Pulmonary function testing prior to reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in an unselected patient cohort predicts posttransplantation pulmonary complications and outcome

José Luis Piñana,^{1,2*} Rodrigo Martino,¹ Pere Barba,^{1,3} Jesús Bellido-Casado,⁴ David Valcárcel,^{1,3} Anna Sureda,¹ Javier Briones,¹ Salut Brunet,¹ José Manuel Rodríguez-Arias,⁴ Pere Casan,⁴ and Jorge Sierra¹

Pretransplant pulmonary function tests (PFTs) have been checked mostly in myeloablative allogeneic stem cell transplantation (Allo-SCT). Their value in the setting of reduced intensity conditioning Allo-SCT (Allo-RIC) has been less explored. We retrospectively evaluated the predictive value of PFTs on posttransplant pulmonary complications (PPC) and outcomes in 195 consecutive Allo-RIC patients, based on fludarabine plus busulphan or melphalan. PFT parameters included forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV1), FEV1/FVC ratio, total lung capacity (TLC), residual volume, and diffusion capacity for carbon monoxide (DLCo) corrected for the hemoglobin levels. Pretransplant PFTs abnormalities were observed in 130 patients (66%). The most frequent abnormalities were abnormal DLCo ($n = 83$, 44%), followed by FEV1/FVC ($n = 75$, 38%) and FVC ($n = 47$, 24%). The abnormalities were severe in 25 (13%) patients, moderate in 65 (33%) and mild in 40 patients (21%). Multivariate analysis showed that TLC was significantly associated with PPC, nonrelapse mortality and overall survival (OS), (HR 4.2, 95% CI. 2–8.5; HR 3.8, 95% CI. 1.7–8.5; HR 2.3, 95% CI. 1.3–4.1, respectively, $P = 0.01$), while abnormal FVC had a negative impact on PPC and OS (HR 1.8, 95% CI. 0.98–3.6, $P = 0.06$ and HR 1.7, 95% CI. 1.1–2.6, $P = 0.008$). This study emphasizes the valuable role of PFTs in identifying patients at risk for PPC, NRM, and lower OS in the Allo-RIC setting. *Am. J. Hematol.* 00:000–000, 2011. © 2011 Wiley-Liss, Inc.

Introduction

Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (Allo-HSCT) with high-dose chemotherapy conditioning is an effective treatment for several neoplastic disorders. However, the general accepted practice limits the application of such procedure to young (<55 years) and/or fit patients due to the relevant nonhaematological toxicity which could result in a high treatment-related mortality. Reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation (Allo-RIC) has been designed to reduce toxicity in heavily pretreated, older or unfit patients. As a result, Allo-RIC patients are prone to have more significant comorbidities than recipients of Allo-HSCT [1]. Despite a reduction in conditioning intensity, performance status, age, pretransplant organ function status (i.e., liver, heart, kidneys, and lungs) and other comorbidities have a major impact on the outcome of RIC recipients, as established by several groups [1–7].

Among the vital organs, it is generally accepted that an adequate lung function is crucial for the management of life-threatening complications that occur after Allo-HSCT. In addition, pretransplant respiratory dysfunction is a risk factor for pulmonary morbidity after transplant [8–10], and patients with poor lung function are usually excluded from Allo-HSCT trials. Hence, lung function is routinely checked by means of pulmonary function tests (PFTs) before transplantation, which serve not only as a reference for later posttransplant assessment, but also to estimate the risk of transplant-related lung injuries.

The best way to determine pretransplant pulmonary dysfunction is not clear. Most comorbidity indexes and pretransplant predictive models rely on forced expiratory volume in the first second (FEV1) and diffusion capacity for carbon monoxide (DLCo) as the sole indicators of lung function [5, 11]. However, pretransplant PFTs usually include a more detailed spirometric evaluation and estimation of lung volume parameters, such as forced vital capacity (FVC), FEV1/FVC ratio, total lung capacity (TLC), and residual volume (RV). Any of these parameters or all of them combined may help to accurately

assess the pretransplant pulmonary function. However, current data concerning the value of each component of PFTs in predicting outcome is somewhat conflicting. In addition, studies evaluating the value of PFTs in predicting outcome of Allo-HSCT are quite heterogeneous in terms of conditioning regimens, especially with respect to their intensity. Most studies in this setting include extensive use of TBI in their cohorts of patients, which could likely modify the sensitivity of the pretransplant PFTs in predicting outcomes [8–19]. In this sense, abnormal PFTs (mainly FEV1, FVC, DLCo, and TLC) before transplant have been associated with posttransplant pulmonary function impairment [10, 12, 13] and higher risk of posttransplant pulmonary complications (PPC) [8, 14–16] and mortality [8, 12, 17, 18]. Furthermore, researchers from Seattle developed a lung function score (LFs) model based on the severity of FEV1 and DLCo abnormalities which was able to predict not only survival but also early posttransplant respiratory failure [8], which has not, to our knowledge, been validated by other centres. On the other hand, a relevant study conducted by Crawford and Fisher [19] did not find any of the pulmonary indicators to be associated with mortality.

¹Hematology and Stem Cell Transplantation Division, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona and Universitat Autònoma de Barcelona, Spain;

²Hematology Division, Hospital Manises, València, Spain; ³Hematology and Stem Cell Transplantation Division, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain;

⁴Pulmonary Function Test Division, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

Conflict of interest: Nothing to report

*Correspondence to: José Luis Piñana, Hematology Department, Hospital Manises, C/Rosas S/N, Valencia 46940, Spain. E-mail: jlpinana@gmail.com

Contract grant sponsor: Instituto de Salud Carlos III (Ministerio de Sanidad, Spain); Contract grant number: CM06/00139.

Received for publication 21 May 2011; Revised 29 August 2011; Accepted 30 August 2011

Am. J. Hematol. 00:000–000, 2011.

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/ajh.22183

To elucidate which components of pretransplant lung function assessment are the most reliable for predicting the risk of PPC, nonrelapse mortality (NRM), and overall survival (OS), we retrospectively analysed the value of PFTs in a specific transplant setting of Allo-RIC patients, whose conditioning was based on chemotherapy, by evaluating in detail several spirometric and lung volume parameters.

Patients and Methods

We retrospectively included in this study 195 consecutive adults who received an Allo-RIC in our division between 1999 and 2006. All patients were included in a series of consecutive Allo-RIC trials designed for patients not eligible for a conventional high-dose myeloablative conditioning, as reported elsewhere in detail [20–22]. All patients gave written informed consent for inclusion in each study, and all studies were approved by our National and local Ethics Committees. Our study is subject to the common limitations associated with single center retrospective studies. In addition, perhaps the major limitation of our study is the relatively small sample size.

Conditioning regimen and GvHD and infectious prophylaxis. In brief, conditioning regimens included fludarabine (150 mg/m²) in combination with oral busulphan (8–10 mg/kg, with pharmacokinetic dose adjustment of busulphan to ensure a similar steady state concentration in all patients (range 800–1,000 ng/mL) [23]) in myeloid malignancies, fludarabine plus melphalan (70–140 mg/m²) for lymphoid malignancies and multiple myeloma, fludarabine plus cyclophosphamide 120 mg/kg in solid malignancies or fludarabine plus low-dose TBI 2Gy for chronic myeloid leukemia in first chronic phase. Graft-versus-host disease (GvHD) prophylaxis included cyclosporine A (CsA) plus methotrexate (MTX) or CsA plus mycophenolate mophetil (MMF), as reported elsewhere [20]. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab or ATG was given to recipients of non-HLA identical donors.

Acyclovir, fluconazole, and ciprofloxacin were administered during the 2 weeks following stem cell infusion as infectious prophylaxis. Cytomegalovirus (CMV) infection screening for guiding preemptive therapy was performed as described elsewhere in detail [24]. The routine study of the galactomannan (GM) Platelia assay (Bio-Rad Laboratories, Marres la Coquette, France) in blood samples since 2003, was performed with a maximum of three times per week in inpatients and at each visit in outpatients. Respiratory samples were also always studied by fungal-directed cytological stains and fungal cultures [25].

Comorbidity index and pretransplant predictive models. The patients' charts were reviewed to capture in detail all the information needed for calculating the hematopoietic cell transplantation comorbidity index (HCT-CI) and the pretransplantation assessment of mortality (PAM) score. The final scores for each model were calculated by adding the different scores, as previously defined [5,11]. Finally, we stratified our patients according to a flexible HCT-CI, as recently detailed [6].

Lung function testing laboratory. According to our standard transplant protocol, PFTs were performed to all patients before transplant, which were recorded prospectively in our transplant database. Patients with FEV1, DLCo and FVC <30% of the theoretical values were not considered for Allo-RIC. Only PFTs values obtained within 30 days preceding the transplant were used in the analysis. We recorded the following parameters: FVC, FEV1, the FEV1/FVC ratio. Lung volume measurements included TLC and RV. DLCo was determined by using a carbon monoxide single-breath technique. DLCo measurements were corrected for the hemoglobin measurement obtained closest to the time of diffusion capacity measurement. Among patients who received a bronchodilator challenge during the PFTs ($n = 125$), only the prebronchodilator values were selected for the study. After transplant, PFTs were not systematically performed. Only patients with active GvHD and respiratory symptoms not resolving with an adequate antimicrobial therapy underwent PFTs. All PFTs were performed at the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, according to the standard guidelines [26–28], using Mantobox V6200 (Sensormedics 1995) and Datospir 600 with Fleish tacography system (Sibelmed, Barcelona). Detailed reports on the selection of reference values and interpretation of lung function tests [29,30] were used to fix predicted values of FEV1, FVC, TLC, and DLCo.

Definitions of pulmonary function abnormalities. We classified the severity of the PFTs abnormalities as normal, mild, moderate, and severe following the current proposal [31]. The global severity of abnormal PFTs was assigned according to the worse grade of any PFT parameter.

In brief, the results of the PFTs were considered normal when FEV1, FVC, and TLC were $\geq 80\%$, mildly abnormal for values between 80 and 70%, moderately abnormal for <70–60%, and severely abnormal when

<60% of reference values. FEV1/FVC ratio was graded as follow; normal when ≥ 0.8 , mildly abnormal for <0.8–0.7, moderately abnormal for <0.7–0.6, and severe when it was <0.6. For DLCo, we considered normal values $\geq 70\%$, mild abnormality for values between 70 and 60%, moderate for <60–50%, and severe when it was <50%. Finally, RV was considered normal when the value was $\leq 120\%$, mild abnormality for values between 120 and 140%, moderate for >140–160%, and severe for >160%.

Of note, we did not consider mild FEV1/FVC abnormalities as an indicator of lung disease by itself; thus, in the context of an otherwise normal lung function assessment, patients with a FEV1/FVC between 0.8 and 0.7 of the predicted value were considered as having a normal lung function when this ratio was the sole altered parameter.

Lung function score (LFs). In an effort of identifying a LFs with the potential of predicting post-HSCT outcomes, Parimon et al. [8] used the sum of FEV1 and DLCo severity grades (using the following reference values for both; normal when values were $\geq 80\%$, mildly abnormal for values between 80 and 70%, moderately abnormal for 70–60%, and severely abnormal when they were below 60% of reference values), as follows: normal = 1 point; mild = 2 points; moderate = 3 points; and severe = 4 points, and the patients were assigned a LFs, which was the sum of the points from both severity grades, as follows: normal, Score 2; mild, Score 3–4; moderate, Score 5–6; and severe, Score 7–8. This model significantly predicted early respiratory failure, NRM and the survival probability. In the current study, we calculated the LFs in our patients using the same criteria and analysed its impact on post-HSCT outcomes.

Posttransplant pulmonary complications (PPC). Infectious PPC. Infectious pneumonia was defined as new onset of fever, cough, rales, and/or wheezing in conjunction with a new pulmonary infiltrate identified on a chest radiograph or chest CT scan and supported by a detailed bacterial, fungal, and virological evaluation by urine, blood, nasopharyngeal aspiration, sputum, and/or bronchoalveolar lavage samples, as reported previously by our group in the same cohort of patients [25].

Noninfectious PPC. Patients with any primary respiratory event without any evidence of infectious cause after detailed microbiological study were considered as having a non-infectious PPC. Information was collected regarding diagnostic procedures, radiology studies, PFTs after transplant, the presence of GvHD, autopsy results, and the final impressions about the pulmonary course. Obliterating bronchiolitis (OB), bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia (BOOP), diffuse alveolar haemorrhage, and idiopathic pneumonia syndrome were diagnosed according to published criteria [32,33]. Respiratory failure in the context of multiorgan failure was not considered as a primary pulmonary complication, unless the PPC was the initial presentation before the progression to multiorgan failure.

Statistical analysis. The main endpoints of the study were to describe the prevalence and characteristic of pretransplant pulmonary dysfunction evaluated via PFTs, as well as to evaluate the predictive value of PFTs abnormalities in developing PPC, NRM, and OS. The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan–Meier curves, while PPC and NRM were calculated using cumulative incidence estimates, taking into account the competing risk structure [34,35]. Univariate analyses of the association of various clinical risk factors with these latter posttransplantation outcomes were calculated using univariate Cox regression models, while the log-rank test was used for OS [34,35]. Multivariate analyses for PPC, NRM, and OS were performed by Cox proportional hazards regression, with inclusion of those variables with a P value less than 0.1 in the prior univariate testing. Tests of significance were two-sided, with a significance P level of 0.05 or less. All statistical analyses were performed using SPSS version 17.0 (SPSS, Chicago, IL), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were carried out with NCSS 2004 (Number Cruncher Statistical System, Kaysville, UT).

Results

Patient and PFTs characteristics

Detailed patient characteristics are shown in Table I. Pretransplant FEV1, FVC, and FEV1/FVC ratio data were available for all patients, while DLCo, RV, and TLC data were available in 188, 173, and 173 patients, respectively. Overall, 130 patients (67%) had at least one abnormal parameter in the PFTs; these abnormalities were mild in 21%, moderate in 33% and severe in 13% of the patients. The distribution of PFTs parameters and their level of severity are shown in Table II. The most frequent abnormality in the PFTs was the FEV1/FVC ratio ($n = 121$, 62%). However, in 46 out of 96 patients with 80–70% of the predicted FEV1/FVC value there were no other abnormal PFT pa-

TABLE I. Demographic and Baseline Comorbid Conditions According to PFTs

Variables	Abnormal PFTs (n = 130)	Normal PFTs (n = 65)	P value
Median age in years (range)	55 (18–71)	54 (18–72)	0.7
Gender Male, n (%)	80 (62)	43 (66)	0.6
Female to male, n (%)	37 (28)	14 (21)	0.4
Unrelated donor, n (%)	21 (16)	15 (23)	0.2
Underlying disease, n (%)			
Acute leukemia/MDS/ MPS	28/8/10 (35)	13/5/6 (37)	
CLL	12 (9)	5 (8)	
NHL	26 (20)	13 (20)	ns
HD	20 (15)	7 (10)	
MM	19 (15)	11 (17)	
Solid tumors and others	7 (7)	5 (8)	
No. Prior therapies, mean (range)	6 (1–10)	4 (0–9)	0.1
Prior HSCT, n (%)	56 (40)	20 (31)	0.12
ECOG >1 at HSCT, n (%)	25 (19)	8 (12)	0.3
PBSC, n (%)	120 (92)	61 (94)	0.8
Prior history of smoking habit, n (%)	64 (49)	25 (38)	0.1
Comorbidity scores, median (range)			
HCT-CI	1 (0–6)	0 (0–3)	0.001
PAM score	23 (10–37)	20 (7–30)	0.001
Advanced disease status at HSCT, n (%)	102 (78)	49 (75)	0.7
Conditioning regimen, (%)			
Flu-mel	86 (66)	34 (52)	
Flu-Bu	40 (31)	23 (35)	n.s
Others	4 (3)	8 (12)	
GvHD prophylaxis, n (%)			
CsA-MTX	94 (72)	42 (65)	
CsA-MMF	31 (24)	22 (34)	0.4
Others	5 (4)	1 (2)	
T-cell depleted regimen, n (%)	18 (14)	7 (11)	0.7
CD34 infused (×109/kg), median (range)	6.6 (1.2–15)	6.2 (1.5–15.6)	0.8
CMV serology, n (%)			
Donor and/or Receptor +	123 (95)	63 (97)	0.7
Median follow-up in days, (range)	584 (8–3,642)	1231 (12–3379)	0.02
Overall survival at median F-up (%)	33%	51%	0.05

Abbreviations, PFTs, pulmonary function tests; MDS, myelodysplastic syndrome; MPS, myeloproliferative syndrome; CLL, chronic lymphocytic leukemia; NHL, non-Hodgkin lymphoma; HD, Hodgkin disease; MM, multiple myeloma; PBSC, peripheral blood mobilized stem cells; N^o, number; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; CsA, cyclosporine A; GVHD, graft versus host disease; Flu, fludarabine; Mel, melphalan; Bu, busulfan; MTX, methotrexate; MMF micophenolate mophetil; CMV, cytomegalovirus.

TABLE II. Pulmonary Function Tests (PFTs) Characteristics

PFT parameters	Median % (range)	Severity of PFTs findings ^a			
		Normal, n (%)	Mild, n (%)	Moderate, n (%)	Severe, n (%)
FEV1, (n = 195)	92 (45–127)	149 (76)	29 (15)	10 (6)	6 (3)
FVC, (n = 195)	90 (41–125)	148 (76)	33 (17)	10 (5)	4 (2)
FEV1/FVC, (n = 195)	0.77 (0.5–0.99)	74 (38)	96 ^b (49)	22 (11)	3 (2)
RV, (n = 173)	101 (40–264)	131 (76)	25 (14)	10 (6)	7 (4)
TLC, (n = 173)	98 (52–144)	156 (90)	13 (8)	3 (1.5)	1
DLC _o , (n = 188)	71 (32–115)	105 (56)	35 (19)	29 (15)	19 (11)

Abbreviations, PFT, pulmonary function test; n, number; FEV1, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; RV, residual volume; TLC, total lung capacity; DLC_o, diffusion capacity for carbon monoxide.

^a See definitions of pulmonary function abnormalities.

^b In 46 (48%) out of 96 patients with mild FEV1/FVC ratio abnormality but normal FEV1 and FVC values, the PFTs were considered to be normal (see text).

rameters (this means that the FEV1 and FVC values were both normal, but the FEV1/FVC ratio was between 80 and 70%), and thus they were classified as having normal lung function. Thus, the most common abnormal PFT parameter observed in our cohort was a reduction of the diffusion capacity (42%).

Impact of PFTs in PPC

PPC characteristics. Ninety-eight (50%) patients developed PPC (54, 20, and 24 patients developed infectious PPC, non-infectious PPC or both, respectively). The median time of onset of PPC was 150 days (range 0–2,026 days), 140 days

TABLE III. Post-Transplant Pulmonary Complications

Infectious (n=78) ^a	Noninfectious (n=44) ^a
Bacterial^b	28
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
Viral^c	32
CMV	18
Fungal	16
<i>Aspergillus</i> spp	15
Unknown	18
	Chronic GvHD-related PPC
	Obliterating Bronchiolitis (OB)
	OB Organizing Pneumonia
	Diffuse alveolar hemorrhage
	Unknown etiology
	(Include patients with IPS)
	Progression of the underlying malignancy^d

CMV, cytomegalovirus; GvHD, graft versus host disease; IPS, idiopathic pneumonia syndrome.

^a The number n refers to the number of pulmonary infectious and noninfectious episodes.

^b Other bacterial etiologies included *Haemophilus influenzae* serotype b three patients, *Streptococcus viridans* three patients, *Staphylococcus aureus* three patients, *Escherichia coli* two patients, and *Acinetobacter baumannii* one patient.

^c Other viral etiologies included influenza virus A in four patients, parainfluenza virus type 3 in four patients, respiratory syncytial virus five patients, and adenovirus one patient.

^d Baseline disease was not included in the rest of the analysis, as it was scored as a competitive event.

(range 0–2,046), and 268 days (range 0–1,770 days) post-transplantation for infectious and noninfectious PPC, respectively ($P < 0.001$). Overall, the 6-year cumulative incidence of PPC was 45% [95% confidence interval (CI), 38–53%]. Infectious PPC complications were more frequent than noninfectious PPC [Cum. Inc of 35% (95% CI. 30–46%) vs. 20% (95% CI. 14–29%), respectively]. The main causes of infectious and noninfectious PPC are shown in Table III.

PPC risk factors analysis. We evaluated the predictive factors for the 6-year occurrence of PPC. Each parameter tested in the PFTs and demographic base-line characteristic were included into the analysis. Univariate and multivariate (MVA) proportional hazard ratio models are shown in Table IV. Among the PFTs indicators, TLC appears as a predictor for PPC (HR 4.2, 95% CI. 2–8.5, $P < 0.001$) while FVC shows a trend (HR 1.8, 95% CI. 0.98–3.6, $P = 0.06$). Other variables associated with a higher risk of PPC were: female donor to male recipient (HR 2.4, 95% CI. 1.5–3.9; $P < 0.001$) and having received more than three prior lines of therapy (HR 1.9, 95% CI. 1.2–3; $P = 0.01$).

Impact of PFTs on NRM and OS

Results of the univariate and multivariate risk factor analyses for NRM and OS are shown in Table V. Fifty-seven patients died from NRM, with a 6-year cumulative incidence of 29% (95% CI. 23–36%). The most common causes of NRM were GVHD and infections (27 patients died from GVHD with infection, 17 from GVHD without infection and 9 from infection without GVHD). The 6-year probability of OS for the entire group was 41%. TLC was associated with higher NRM and worse OS in the MVA (HR 3.8, 95% CI. 1.7–8.5; $P < 0.001$ and HR 2.3 95% CI. 1.3–4.1; $P = 0.006$, respectively), while FVC showed only worse OS (HR 1.7, 95% CI. 1.1–2.6; $P = 0.008$). Importantly, the severity of pulmonary dysfunction assessed globally correlated with a worse OS, as shown in Fig. 1.

Lung function score validation

We attempted to validate the LFs developed by Parimon et al. in our cohort of patients. One hundred and eighty-eight patients with complete FEV1 and DLC_o data were categorized. The patients were then divided into three LF categories [normal: Score 2 (n=56); mild, Score 3–4 (n = 77); moderate to severe, Score 5–8 (n = 55)], because only six patients were found to have a score of 7–8 (severe category in the original LFs model). The LFs did not show any predictive value for PPC and NRM in the univariate analyses as well in the MVA for OS (Tables IV and V).

TABLE IV. Cumulative Incidence and Multivariate Cox Regression Hazard Model Analysis of Risk Factors for Posttransplant Pulmonary Complications (PPC)

Variables ^a	6-year pulmonary complications (n = 98)			
	Univariate analysis		Cox. Regr	
	Cum.Inc. % (95%CI)	P value	HR (95%CI)	P value
Donor				
Related	41 (33–50)			
Unrelated	60 (44–82)	0.04	ns	
Sex mismatch				
Female to male	66 (53–81)	<0.001	2.4 (1.5–3.9)	<0.001
Others	36 (29–46)			
No. therapies before HSCT				
< 3 lines	39 (30–51)			
3 or more lines	49 (40–61)	0.01	1.9 (1.2–3)	0.01
Flexible HCT-CI risk groups				
0–3	37 (28–48)			
4–5	60 (47–76)	0.02	ns	
>5	44 (30–64)			
Pulmonary indicators				
Lung HCT-CI score				
0	37 (22–61)			
2	42 (33–59)	0.3		
3	49 (38–62)			
LFs				
Normal	40 (28–57)			
Mild	47 (34–66)	0.5		
Moderate to severe	48 (35–65)			
FEV1				
≥80%	41 (33–50)			
<80%	54 (40–71)	0.008	ns	
FVC				
≥80%	40 (32–49)			
<80%	56 (43–73)	<0.001	1.8 (0.98–3.6)	0.06
FEV1/FVC				
≥80%	43 (32–59)	0.9		
<80%	46 (36–56)			
DLC _o				
≥70%	47 (38–59)	0.4		
<70%	43 (33–56)			
RV				
≤120%	47 (39–57)	0.3		
>120%	42 (29–60)			
TLC				
≥80%	41 (33–51)	<0.001	4.2 (2–8.5)	<0.001
<80%	73 (54–99)			

Abbreviations, Cum. Inc., cumulative incidence; CI, confidence interval; COX, Cox regression hazard model; HR, hazard ratio; GVHD, graft versus host disease; No. umber; NT, not tested; HCT-CI, Hematopoietic stem cell transplantation comorbidity index; PFT, pulmonary function test; LFs, lung function score; ns, non-significant.

^a Other variables analyzed but which failed to reach even a trend on impact (*P* > 0.1) in univariate analysis included age more than 60 y, ECOG >1, PAM score (pretransplant assessment mortality score), conditioning regimen, base-line disease, GvHD prophylaxis, CMV serology, prior autologous transplant, T-cell depleted conditioning, advanced disease status at transplant and Lung HCT-CI score.

Discussion

The current study describes lung function status before transplantation and evaluates its predictive value on post-transplant outcomes in a consecutive cohort of Allo-RIC recipients with a long follow-up. A relevant finding in this study was the high frequency of pretransplant abnormal PFTs (66%) according to the current proposal to classify PFTs abnormalities [31]. Pretransplant abnormal PFTs rates of 4–35% have been reported in Allo-HSCT [8,18]. These differences are justified in part by the fact that these studies included the rates of each specific PFT indicator, while our study reported the global rate of abnormal PFTs. In addition, the aforementioned studies incorporated more myeloablative transplants, and it is well known that Allo-RIC patients have more comorbidities, including pulmonary abnormalities, when compared to myeloablative transplant recipients [3,18]. Impaired respiratory muscle strength may also contribute

partially to the high rate of abnormal PFTs observed in the Allo-RIC setting [36]. Among the PFTs, DLCo has been reported as the most common altered parameter [18,36,37]. In contrast, FEV1/FVC ratio seemed to be the most common abnormal pulmonary indicator in our cohort (62%). However, FEV1/FVC between 70 and 80% was the only abnormality in half of these patients, and therefore they were considered as having a normal lung function. Hence, we confirmed that an abnormal DLCo was also the most common altered parameter in our study (44%).

The incidence of PPC following Allo-HSCT ranges from 30 to 70% depending on the analysis of early (<100 days of transplant) or late PPC [38–40]. In the current study the overall incidence of PPC was 45% for both early and late PPC, and infectious complications were more common than non-infectious PPC (35% vs. 20%, respectively) as reported in previous studies [38,41]. Viral infections (41%), mainly CMV pneumonitis (23%), were the predominant identifiable causes of infectious PPC, followed by pulmonary aspergillosis (19%). We confirm that pulmonary disease by CMV and *Aspergillus* spp are still important complications after Allo-RIC. Thus, it seems reasonable to expand the strict virological and antimould surveillance, both by increasing the frequency of screening test early post-HSCT, and by extending the surveillance screening after day +100 for patients considered at high risk for both complications such as those under long-term steroid therapy and/or active GvHD. Among the noninfectious PPC, the most common complication was OB (40%) followed by BOOP (11%), which occurred later posttransplant than infectious causes [42]. The incidence of OB in our series of patients was 9% (95% C.I. 3.5–15.6), in line with a prior report [43].

Studies focusing on the predictive factors for PPC, NRM, and OS in this setting have suggested that PFTs play a relevant role in predicting not only PPC [44] and posttransplant PFTs changes [10,12] but also NRM and OS [8,17–19]. Accordingly, a low FEV1/FVC ratio has been recognized as a predictor for posttransplant airflow obstruction [12], while low values of FEV1, FVC, DLCo, and TLC have shown a strong correlation with the development of PPC and mortality [8,17–19,45]. Results from the current study confirm that pretransplant PFTs have a role in predicting post-Allo-RIC outcomes, although in MVA we found that lower TLC showed a predictive value on the development of PPC, NRM, and OS, while low FVC showed a correlation with PPC and lower OS. As recently suggested by Rodriguez-Sarmiento et al., restrictive lung disease defined by low values of TLC may negatively influence the Allo-HSCT outcome [46]. These authors suggest that low TLC values could be related with respiratory muscle weakness in patients who received multiple rounds of treatment before transplant, with a resultant decrease in pulmonary reserve and thus a lower probability of overcoming post-transplant pulmonary complications. We performed a detailed analysis of our patients with a reduced TLC (*n* = 17, 9%) and found that the median number of prior lines of therapy received in this group of patients was 6 (range 3–9), while for the entire cohort it was 4 (range 0–10); all of these 17 patients had received three or more prior lines of therapy (three patients received three prior lines, two received four prior lines, six patients received six lines, four patients received seven, and two received eight and nine). These results also support a possible relationship between low TLC and weakness of the thoracic respiratory muscles, reflecting a very heavily pretreated status before transplant.

Concerning the severity of lung dysfunction, large studies have shown a stepwise decrease in OS for successively worse severity categories of abnormal PFTs [8,18]. In the current study, we also found a progressive decrease in OS with the increase in the severity of abnormal PFTs when

TABLE V. Uni and Multivariate Analysis of Predictors for NRM and OS

Variables ^a	6-year NRM				6-year OS			
	Univariate analysis		Cox. Regr.		Kaplan–Meier		Cox. Regr.	
	Cum. Inc.% (95% C.I.)	P value	HR (95% C.I.)	P value	Probability % (95% C.I.)	P value	HR (95% C.I.)	P value
GVHD prophylaxis Δ								
CsA-MTX	24 (17–32)				43 (39–48)	0.02	0.6 (0.4–0.9)	0.01
Others	43 (32–57)	0.003	NT		33 (27–39)			
Female to male								
yes	43 (31–59)	0.01	2.6 (1.4–4.5)	<0.001	22 (16–28)	0.01	1.8 (1.2–2.6)	0.005
no	24 (18–32)				46 (42–50)			
No. prior therapies Allo-RIC								
= or <3 lines	27 (19–38)	0.1	Ns		49 (44–54)			
>3 lines	31 (23–42)				29 (24–33)	0.008	1.7 (1.2–2.6)	0.007
Donor								
Related	25 (19–33)				40 (36–44)			
Unrelated	47 (33–66)	0.005	3.2 (1.7–6)	<0.001	38 (30–46)	0.3		
Flexible HCT-CI risk groups ^b								
0–3	19 (12–28)				55 (50–60)			
4–5	33 (22–49)	0.04	2.2 (1.1–4.4)	0.02	21 (15–27)	0.01	2 (1.3–3.4)	0.03
>5	40 (28–56)		9 (2–70)		26 (20–30)		4.5 (0.9–33)	
<i>Pulmonary indicators</i>								
LFs								
Normal	32 (22–47)				43 (36–50)			
Mild	31 (20–48)	0.2	ns		46 (40–52)	0.01	ns	
Moderate to severe	33 (22–49)				21 (15–27)			
FEV1								
$\geq 80\%$	27 (21–36)				45 (41–49)			
<80%	35 (24–52)	0.1	ns		20 (13–27)	0.004	ns	
FVC								
$\geq 80\%$	26 (20–35)				46 (42–50)			
<80%	38 (27–55)	0.02	ns		19 (13–25)	0.001	1.7 (1.1–2.6)	0.008
DLC _o								
$\geq 70\%$	31 (25–41)				49 (44–54)			
<70%	30 (22–42)	0.6			26 (21–31)	0.007	ns	
TLC								
$\geq 80\%$	29 (22–37)				42 (38–46)			
<80%	49 (30–81)	0.005	3.8 (1.7–8.5)	<0.001	9 (2–16)	0.001	2.3 (1.3–4.1)	0.006

Abbreviations, Cum. Inc., cumulative incidence; CI, confidence interval; COX. Regr, cox regression hazard model; HR, hazard ratio; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; GVHD, graft versus host disease; MTX, methotrexate, No. number; HCT-CI, hematopoietic cell comorbidity index; PFT, pulmonary function test; LFs, lung function score; ns, non-significant; NT, not tested.

Δ there was an over-representation of MTX in HLA matched sibling donor which may underestimate the effect of MTX prophylaxis in OS.

^a Prior ASCT and advanced disease status showed a trend in OS univariate analysis ($P= 0.07$ and 0.08 , respectively) but did not show any impact on OS in MVA. Other variables analysed but which failed to reach even a trend on impact ($P > 0.1$) in univariate analysis included age more than 60 y, ECOG >1, PAM score (pretransplant assessment mortality score), conditioning regimen, base-line disease, CMV serology, T-cell depleted conditioning, Lung HCT-CI score, FEV1/FVC and RV.

^b Reference value for the Hazard ratios was the “0–3” category of the HCT-CI.

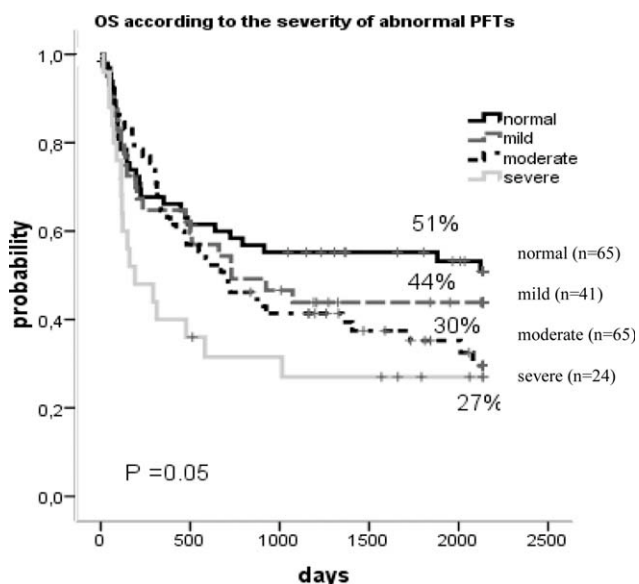


Figure 1. OS according to the global severity of abnormal PFTs which was assigned according to the worse grade of any PFT parameter.

assessed globally (Fig. 1). These results reinforce the idea that not only the cut-off values of individual PFTs parameters are useful in predicting outcomes, but more importantly is their overall severity. In this respect, the LFs (derived from the sum of the degree of reduction of the FEV1 and DLCo) were able to predict the probabilities of early respiratory failure and survival in the Parimon et al. study [8]. Unfortunately, the LFs had no predictive value on the outcome of our Allo-RIC patients, except for OS in the univariate analysis. The lack of impact on these outcomes (PPC, NRM, and OS) may be partly explained by the fact that we did not analyze exactly the same time points for these outcomes. Nevertheless, the main reason is probably the low number of patients in our study, which reduces the power to identify differences between categories.

Pretransplant disease severity scores such as the HCT-CI and the PAM score categorize the pre-SCT lung function status according only to the FEV1 and DLCo values [5,11]. In the current study, we also evaluated the impact of the lung components of these scores (the lung HCT-CI score and the lung PAM score) in the outcome of our Allo-RIC cohort, but they showed no apparent association with any outcome. Of course, these findings are consistent with the fact that only TLC and FVC were the PFTs which predicted outcomes in our patients.

In an attempt to analyze the independent impact of TLC and FVC on PPC, NRM, and OS in our patients, we included the flexible HCT-CI score into the MVA model, which showed an independent effect on these outcomes, suggesting that these two parameters may add prognostic information in the pretransplant risk assessment models. Therefore, the development of scores which include most of the PFT parameters, as well their overall severity is likely to be the best strategy to improve the usefulness of PFTs in the pretransplant comorbidity indexes or risk models.

In conclusion this study emphasizes the valuable role of PFTs in identifying patients at risk for PPC and lower survival, but there still exist many questions that need to be addressed. Larger studies are warranted to more precisely define which parameters of the PFTs more reliably and in a reproducible manner predict PPCs and have an impact on NRM and OS.

References

- Sorror ML, Maris MB, Storer B, et al. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after non-myeloablative and myeloablative conditioning: Influence of pretransplantation comorbidities. *Blood* 2004;104:961–968.
- Xhaard A, Porcher R, Chien JW, et al. Impact of comorbidity indexes on non-relapse mortality. *Leukemia* 2008;22:2062–2069.
- Guilfoyle R, Demers A, Bredeson C, et al. Performance status, but not the hematopoietic cell transplantation comorbidity index (HCT-CI), predicts mortality at a Canadian transplant center. *Bone Marrow Transplant* 2009;43: 133–139.
- Sorror ML, Giralt S, Sandmaier BM, et al. Hematopoietic cell transplantation specific comorbidity index as an outcome predictor for patients with acute myeloid leukemia in first remission: Combined FHCRC and MDACC experiences. *Blood* 2007;110:4606–4613.
- Sorror ML, Maris MB, Storb R, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: A new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005;106:2912–2919.
- Barba P, Piñana JL, Martino R, et al. Comparison of two pretransplant predictive models and a flexible HCT-CI using different cut off points to determine low-, intermediate-, and high-risk groups: The flexible HCT-CI is the best predictor of NRM and OS in a population of patients undergoing allo-RIC. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:413–420.
- Farina L, Bruno B, Patriarca F, et al. The hematopoietic cell transplantation comorbidity index (HCT-CI) predicts clinical outcomes in lymphoma and myeloma patients after reduced-intensity or non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 2009;23:1131–1138.
- Parimon T, Madtes DK, Au DH, et al. Pretransplant lung function, respiratory failure, and mortality after stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:384–390.
- Clark JG, Schwartz DA, Flournoy N, et al. Risk factors for airflow obstruction in recipients of bone marrow transplants. *Ann Intern Med* 1987;107:648–656.
- Badier M, Guillot C, Delpierre S, et al. Pulmonary function changes 100 days and one year after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:457–461.
- Parimon T, Au DH, Martin PJ, Chien JW. A risk score for mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Ann Intern Med* 2006;144:407–414.
- Chien JW, Martin PJ, Gooley TA, et al. Airflow obstruction after myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:208–214.
- Gore EM, Lawton CA, Ash RC, Lipchik RJ. Pulmonary function changes in long-term survivors of bone marrow transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;36:67–75.
- Chien JW, Martin PJ, Flowers ME, et al. Implications of early airflow decline after myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:759–764.
- Horak DA, Schmidt GM, Zaia JA, et al. Pretransplant pulmonary function predicts cytomegalovirus-associated interstitial pneumonia following bone marrow transplantation. *Chest* 1992;102:1484–1490.
- Ho VT, Weller E, Lee SJ, et al. Prognostic factors for early severe pulmonary complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001;7:223–229.
- Goldberg SL, Klumpp TR, Magdaliniski AJ, Mangan KF. Value of the pretransplant evaluation in predicting toxic day-100 mortality among blood stem-cell and bone marrow transplant recipients. *J Clin Oncol* 1998;16:3796–3802.
- Chien JW, Maris MB, Sandmaier BM, et al. Comparison of lung function after myeloablative and 2 Gy of total body irradiation-based regimens for hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11: 288–296.
- Crawford SW, Fisher L. Predictive value of pulmonary function tests before marrow transplantation. *Chest* 1992;101:1257–1264.
- Valcarcel D, Martino R, Caballero D, et al. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: Chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol* 2008;26:577–584.
- Martino R, Caballero MD, Canals C, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning: Results of a prospective multicentre study. *Br J Haematol* 2001;115:653–659.
- Pérez-Simón JA, Díez-Campelo M, Martino R, et al. Influence of the intensity of the conditioning regimen on the characteristics of acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic transplantation. *Br J Haematol* 2005;130:394–403.
- Martino R, Pérez-Simón JA, Moreno E, et al. Reduced-intensity conditioning allogeneic blood stem cell transplantation with fludarabine and oral busulfan with or without pharmacokinetically targeted busulfan dosing in patients with myeloid leukemia ineligible for conventional conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:437–447.
- Piñana JL, Martino R, Barba P, et al. Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: Single-centre experience. *Bone Marrow Transplant* 2009;45: 534–542.
- Martino R, Piñana JL, Parody R, et al. Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:749–756.
- Quanjer PH, Tammeling GJ, Pederson OF, et al. Report working party standardization of lung function tests European Community for Steel and Coal. Official statement of the European Respiratory Society. *Lung volumes and forced ventilatory flows. Eur Respir J* 1993;6:5–40.
- American Thoracic Society. Standardization of spirometry, 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1107–1136.
- Sanchis J, Casan P, Castillo J, et al. Normativa para la practica de la espirometria forzada. *Arch Bronconeumol* 1989;25:132–142.
- Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005;26:948–968.
- Becklake M, Crapo RO, Buist AS. Lung function testing: Selection of reference values and interpretative strategies. An official statement of the American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1202–1218.
- Chien JW, Madtes DK, Clark JG. Pulmonary function testing prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:429–435.
- Clark JG, Hansen JA, Hertz MI, et al. NHLBI workshop summary. Idiopathic pneumonia syndrome after bone marrow transplantation. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1601–1606.
- 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;11:945–956.
- Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: Unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:909–915.
- Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling; *Bone Marrow Transplant* 2001;28:1001–1011.
- White AC, Terrin N, Miller KB, Ryan HF. Impaired respiratory and skeletal muscle strength in patients prior to hematopoietic stem-cell transplantation. *Chest* 2005;128:145–152.
- Savani BN, Montero A, Srinivasan R, et al. Chronic GVHD and pretransplantation abnormalities in pulmonary function are the main determinants predicting worsening pulmonary function in long-term survivors after stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:1261–1269.
- Krowka MJ, Rosenow EC, Hoagland HC. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Chest* 1985;87:237–246.
- Cordonnier C, Bernaudin JF, Bierling P, et al. Pulmonary complications occurring after allogeneic bone marrow transplantation. A study of 130 consecutive transplanted patients. *Cancer* 1986;58:1047–1054.
- Breuer R, Lossos IS, Berkman N, Or R. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Respir Med* 1993;87:571–579.
- Lee HG, Park BB, Peck KR, et al. Pulmonary complications after hematopoietic stem cell transplantation. *J Korean Med Sci* 2006;21:406–411.
- Patriarca F, Skert C, Bonifazi F, et al. Effect on survival of the development of late-onset non-infectious pulmonary complications after stem cell transplantation. *Haematologica* 2006;91:1268–1272.
- Au BK, Au MA, Chien JW. Bronchiolitis obliterans syndrome epidemiology after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1072–1078.
- Horak DA, Schmidt GM, Zaia JA, et al. Pretransplant pulmonary function predicts cytomegalovirus-associated interstitial pneumonia following bone marrow transplantation. *Chest* 1992;102:1484–1490.
- Ghalie R, Szidon JP, Thompson L, et al. Evaluation of pulmonary complications after bone marrow transplantation: The role of pretransplant pulmonary function tests. *Bone Marrow Transplant* 1992;10:359–365.
- Ramirez-Sarmiento A, Orozco-Levi M, Walter EC, et al. Influence of pretransplantation restrictive lung disease on allogeneic hematopoietic cell transplantation outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:199–206.

Artículo 2

Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT.

Martino R, Piñana JL, Parody R, Valcárcel D, Sureda A, Brunet S, Briones J, Delgado J, Sánchez F, Rabella N, Sierra J.

Bone Marrow Transplantation. 2009; 44 (11): 749-56.

ORIGINAL ARTICLE

Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT

R Martino¹, JL Piñana¹, R Parody¹, D Valcarcel¹, A Sureda¹, S Brunet¹, J Briones¹, J Delgado¹, F Sánchez², N Rabella² and J Sierra¹

¹Division of Clinical Hematology, Hospital de la Sant Creu i Sant Pau, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Catalunya, Spain and ²Department of Microbiology, Hospital de la Sant Creu i Sant Pau, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Catalunya, Spain

We have analyzed the incidence and risk factors for the occurrence of invasive aspergillosis (IA) among 219 consecutive recipients of an allogeneic hematopoietic SCT after a reduced-intensity conditioning regimen (Allo-RIC). Twenty-seven patients developed an IA at a median of 218 days (range 24–2051) post-Allo-RIC, for a 4-year incidence of 13% (95% confidence interval 4–24%). In multivariate analysis, risk factors for developing IA were steroid therapy for moderate-to-severe graft vs host disease (GVHD) (Hazard Ratio (HR) 2.9, $P=0.03$), occurrence of a lower respiratory tract infection (LRTI) by a respiratory virus (RV) (HR 4.3, $P<0.01$) and CMV disease (HR 2.8, $P=0.03$). Variables that decreased survival after Allo-RIC were advanced disease phase (HR 1.9, $P=0.02$), steroid therapy for moderate-to-severe GVHD (HR 2.2, $P<0.01$), not developing chronic GVHD (HR 4.3, $P<0.01$), occurrence of LRTI by an RV (HR 3.4, $P<0.01$) and CMV disease (HR 2, $P=0.01$), whereas occurrence of IA had no effect on survival ($P=0.5$). Our results show that IA is a common infectious complication after an Allo-RIC, which occurs late post-transplant and may not have a strong effect on survival. An important observation is the possible role of LRTI by conventional RVs as risk factors for IA. *Bone Marrow Transplantation* (2009) 44, 749–756; doi:10.1038/bmt.2009.78; published online 27 April 2009

Keywords: aspergillosis; allogeneic hematopoietic SCT; reduced-intensity conditioning; respiratory virus infections

Introduction

Invasive fungal infections (IFIs) are a recognized cause of morbidity and mortality in patients who have undergone an

allogeneic hematopoietic SCT (Allo-HSCT).¹ The use of reduced-intensity conditioning (RIC) regimens may have changed the incidence and time distribution at which IFIs are seen after an Allo-HSCT.^{2–4} With regard to invasive aspergillosis (IA), which is by far the most common IFI at our institution and in many others, RIC regimens may have changed their epidemiology, but there are few studies on the description and risk factor analysis of IA in large patient cohorts with a long follow-up. Here, we report our findings regarding the incidence and risk factors for the development of IA among 219 adult patients who underwent an Allo-HSCT with an RIC (Allo-RIC) at the Hospital de La Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Catalonia (ES), between 1999 and 2007, and were prospectively monitored for the occurrence of IA. During this time period, symptomatic patients were also monitored for respiratory virus infections, allowing the analysis of any possible association of these with the occurrence of IA.

Patients and methods

Two hundred nineteen consecutive adults received an Allo-RIC based on fludarabine plus intermediate-dose BU or melphalan in our Division between 1999 and 2007. Detailed patient characteristics are shown in Table 1. All patients were included in a series of consecutive Allo-RIC trials designed for patients not eligible for a conventional high-dose myeloablative conditioning, as reported elsewhere in detail.^{5–7} All patients gave written informed consent for inclusion in each study, and all studies were approved by our national and local Ethics Committees.

Conditioning regimen and graft-vs-host disease (GVHD) prophylaxis

In brief, two RIC regimens were used. Both included fludarabine plus either oral BU 8–10 mg/kg (with pharmacokinetic drug-dose adjustment⁸) or IV melphalan 70–140 mg/m² (for myeloid and lymphoid malignancies, respectively).⁵ Alemtuzumab or antithymocyte globulin was given to recipients of HLA-mismatched related donors or volunteer unrelated donors (VUDs). Graft-vs-host

Correspondence: Dr R Martino, Division of Clinical Hematology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Sant Antoni Maria Claret 167, Barcelona 8025, Spain.

E-mail: rmartino@santpau.cat

Received 2 January 2009; revised 4 March 2009; accepted 7 March 2009; published online 27 April 2009

Table 1 Patient characteristics and transplant outcomes

Median age, years (Range)	55 (21–72)
Gender male, n (%)	130 (59)
Female donor to male recipient	61 (28)
<i>Underlying disease, n (%)</i>	
AML or MDS-MPS	61 (28)
Non-myeloid neoplasm	158 (72)
Advanced disease status at HSCT ^a , n (%)	172 (79)
<i>Recipient/Donor CMV serology, n (%)</i>	
Recipient and donor negative	11 (5)
Recipient and/or donor positive	208 (95)
<i>Donor type, n (%)</i>	
HLA-identical sibling	173 (79)
Alternative (VUD or MM related)	46 (21)
<i>Conditioning regimen, n (%)</i>	
Fludarabine–Melphalan	136 (62)
Fludarabine–BU	83 (38)
PBSCs, n (%)	208 (95)
Alemtuzumab or ATG-based conditioning, n (%)	32 (15)
<i>GVHD prophylaxis, n (%)</i>	
CsA–MTX	149 (68)
CsA–MMF	70 (32)
Cum. Inc. Acute GVHD, % (95% CI)	
Grade I–IV	44 (37–51)
Grade II–IV	26 (19–34)
Cum. Inc. Chronic GVHD at 3 years, % (95% CI)	70 (51–89)
Cum. Inc. Steroid-refractory acute or chronic extensive GVHD, % (95% CI)	18 (11–25)
Cum. Inc. CMV disease, % (95% CI)	11 (6–16)
Cum. Inc. Infection by a common respiratory virus at 4 years, % (95% CI)	32 (24–40)
Upper RTI only	21 (15–27)
Lower RTI	11 (5–17)
Cum. Inc. Invasive aspergillosis at 4 years, % (95% CI)	13 (5–24)
<i>Diagnosis, n (%)</i>	
Probable–Possible ^b	22 (82)
Proven	5 (18)
Median time of onset, days (Range)	218 (24–2051)

Abbreviations: ATG = antithymocyte globulin; CI = confidence interval; Cum. Inc. = cumulative incidence; HSCT = hematopoietic stem cells transplantation; MDS = myelodysplastic syndrome; MM = multiple myeloma; MMF = micophenolate mofetil; MPS = myeloproliferative syndrome; RTI = respiratory tract infection; VUD = volunteer unrelated donor.

^aAdvanced disease status was considered in patients with acute leukemia in \geq second CR, myeloproliferative disease in \geq second chronic phase and in accelerate or blast phase, Hodgkin's disease in \geq third remission or with PR, follicular lymphoma \geq third CR, large B cell lymphoma or multiple myeloma \geq second CR or PR and solid tumors. Patients with PR or persistent disease at transplantation (except for myeloma) were also considered as advanced disease status.

^b2 patients had a possible IA.

disease (GVHD) prophylaxis consisted of CsA plus short-course MTX or CsA plus mycophenolate mofetil (MMF), as described elsewhere.^{6–9}

Antifungal prophylaxis

While hospitalized, patients at high risk for IA were kept in areas with a positive-pressure, high-efficiency particulate

air-filtered isolation. Anti-*Aspergillus* antifungal prophylaxis was not routinely used, but patients with mucositis and risk of invasive candidiasis received fluconazole prophylaxis (200 mg/day). Thus, patients did not receive a prophylactic antifungal with activity against molds in the early, pre-engraftment period. After engraftment, if GVHD occurred that required high-dose steroids, patients again received antifungal prophylaxis, which consisted of fluconazole or itraconazole depending on the patient's tolerance and potential drug interactions. Patients who required hospitalization because of severe steroid-refractory GVHD received prophylactic therapy with a lipid formulation of amphotericin B at a dose of 1 mg/kg/ daily.¹⁰

Monitoring for aspergillosis and respiratory viral infections Aspergillosis. The initial diagnostic work-up of febrile neutropenic patients and the use of empirical antibacterial treatment followed international guidelines.¹¹ Follow-up included daily clinical examination and microbiological or radiological examinations as clinically indicated. Empirical antifungal therapy with anti-mold active agents was started in patients with persistent or recurrent fever of unknown origin (> 72 h) and a thoracic computerized tomography (CT) scan was carried out, as reported earlier.¹² Patients with GVHD and a febrile illness or respiratory symptoms not resolving with antibiotics were also routinely studied with a chest CT since 1995, and the routine study of the galactomannan (GM) Platelia assay (Bio-Rad Laboratories, Marres la Coquette, France) in blood samples since 2003, with a maximum of three times per week in inpatients and at each visit in outpatients. Respiratory samples were also always studied by fungal-directed cytological stains and fungal cultures. Any of these patients who developed a pulmonary infection of possible filamentous (mold) fungal origin is maintained in a prospective registry that is continuously updated by the senior author (RM).

Respiratory virus (RV) infections. Since 1998, all inpatient or outpatient adults with a hematologic malignancy (including HSCT recipients) who had signs and symptoms of an upper respiratory tract infection (URTI) or lower RTI (LRTI) underwent a detailed virological evaluation. Patients with symptoms of a URTI underwent nasopharyngeal aspiration (NPA), whereas patients with a LRTI underwent bronchoalveolar lavage (BAL) when it was clinically possible.¹³ Patients with pneumonia but no signs of URTI did not undergo NPA. All clinical samples were tested for viral Ag by indirect immunofluorescence assays for respiratory syncytial virus (RSV), parainfluenzae viruses^{1–3} (PIV-1, -2 or -3), influenza A or B (FluA or FluB) and adenoviruses (ADV). Samples were always cultured for these viruses (plus enterovirus) and tested by reverse-transcription PCR (RT-PCR) for non-polio enterovirus, as described elsewhere.¹⁴ In addition, aliquots from BAL and NPA samples were stored at -70°C and tested retrospectively for metapneumoviruses and coronaviruses, as described in detail elsewhere.¹⁵

Definitions

Definition of IA. Proven and probable IA was defined by the 2002 European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group consensus

guidelines.¹⁶ In brief, probable IA was defined by 2 or more positive results of serum galactomannan (optical index > 0.5) or positive galactomannan in BAL fluid, or the isolation of *Aspergillus* sp. from a non-sterile site (BAL, one sample; sputum, two samples) or histologically-defined hyalohyphomycosis without a confirmatory culture, associated to suggestive clinical and radiological signs. Suggestive radiological findings included the presence of nodules with the halo sign during neutropenia or cavitated nodules after neutrophil recovery on the chest X-ray or CT scan.¹²

Respiratory virus (RV) infections. A URTI was defined as the new onset of nasal, pharyngeal or laryngeal irritation with isolation of an RV in an NPA. LRTI was defined as the new onset of cough, rales and/or wheezing in conjunction with a new pulmonary infiltrate in case of pneumonia identified on a chest radiograph or chest CT scan, with isolation of an RV in a BAL or lung sample.

CMV disease. This disease was divided into pneumonia, gastro intestinal disease and retinitis. CMV pneumonia was defined by the presence of signs and/or symptoms of pulmonary disease combined with the detection of CMV in BAL fluid or lung tissue samples. Detection of CMV was carried out by virus isolation, histopathologic testing, immunohistochemical analysis or *in situ* hybridization. The diagnosis of CMV gastro intestinal disease required a positive histology from the affected segment of the gastrointestinal tract, whereas CMV retinitis was defined by the characteristic retinal lesions identified by an expert ophthalmologist.¹⁷

Statistical analysis

The incidence of developing an IA was calculated from the time of transplantation using the cumulative incidence estimate, considering relapse or progression of the underlying malignancy and death from other causes as competing events, whereas patients who were still alive and progression-free at the time of reporting were censored at the last follow-up date.^{18–19} The incidence of other post-transplant events, such as acute and chronic GVHD and infection by an RV was also calculated by cumulative incidence. OS was calculated with the Kaplan–Meier probability estimator from the time of transplantation to death from any cause, with censoring at last follow-up in survivors. Univariate analyses of the risk factors for developing IA were carried out using univariate Cox regression analysis, whereas the log-rank test was used for OS. In addition, to further characterize the truly relevant risk factors, multivariate testing was carried out by multivariate Cox regression analysis, including variables with a *P* < 0.1 in univariate testing. The variables analyzed for their effect on the development of IA (and OS) are shown in Table 2 Post-transplant variables, such as the use of steroids for moderate-to-severe GVHD (defined as acute GVHD grades II–IV and/or extensive chronic GVHD), CMV infection, CMV disease, presence of monocytopenia (< 0.1 × 10⁹/l) and occurrence of a URTI or an LRTI by an RV were included as time-dependent covariates. The assumption of proportional hazards over time was tested for all

Table 2 Univariate and multivariate risk factor analysis for invasive aspergillosis

Variable	Invasive aspergillosis			
	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	4 year Cum. Inc.	P-value	HR (95% CI)	P-value
<i>Patient age</i>				
< 55 years	13			
> 55 years	14	0.9	NA	
<i>Patient sex</i>				
Male	15			
Female	11	0.6	NA	
<i>Diagnosis</i>				
AL and MDS	11			
Others	15	0.7	NA	
<i>Advanced disease</i>				
Yes	15			
No	10	0.4	NA	
<i>Conditioning regimen</i>				
Fludarabine–Melphalan	14			
Fludarabine–BU	12	0.3	NA	
<i>Donor type</i>				
HLA- <i>id</i> sibling	10			
Alternative donors	24	0.01	NA	0.5
<i>Acute GVHD prophylaxis</i>				
CsA–MMF	23			
CsA–MTX	9	0.01	NA	0.2
<i>Alemtuzumab/ATG</i>				
Yes	21			
No	9	0.03	NA	0.15
<i>Monocytopenia^{a,b}</i>				
Yes	22			
No	7	0.02	NA	0.2
<i>Acute GVHD II–IV^a</i>				
Yes	18			
No	8	0.01	NT	
<i>Steroid therapy for msGVHD^{c,a}</i>				
Yes (n = 106)	22			
No	6	< 0.01	2.9 (1.1–7.6)	0.03
<i>CMV infection w/o disease^a</i>				
Yes	15			
No	12	0.4	NA	
<i>CMV disease^a</i>				
Yes (n = 25)	38			
No	9	< 0.01	2.8 (1.1–6.8)	0.03
<i>RTI by a respiratory virus^a</i>				
No	7			
URTIs only	9			
LRTI (n = 27)	33	< 0.01 ^d	4.3 (2–9.4) ^d	< 0.01 ^d

Abbreviations: ATG = antithymocyte globulin; AL = acute leukemia; Cum. Inc. = cumulative incidence; CI = confidence interval; GVHD = graft-vs-host disease; HR = hazard ratio; LRTI = lower RTI; MDS = myelodysplastic syndrome; MMF = mycophenolate mofetil; msGVHD = moderate-to-severe graft-vs-host disease; RTI = respiratory tract infection; URTI = upper RTI. ^aThese variables were analyzed as time-dependent covariates. ^bMonocytopenia (< 0.1 × 10⁹/l), considered as a time-dependent covariate, was analyzed according to the monocyte count at the start of each of the following time periods: days + 28–+ 100, days + 101–+ 365 and day + 366 onwards. ^cDefined as a dose of prednisone of 2 mg/kg/day or equivalent for a total of at least 14 days. ^dRefers to the comparison of LRTI with the combination of no CRV infection and URTI only.

explanatory covariates using a time-dependent covariate. All reported *P* values are two-sided, and a significance level of 0.05 was used. All statistical analyses were carried out

Table 3 Respiratory virus infections diagnosed (% in parentheses)

	No. of patients	Flu A/B	RSV	PIV-3	ADV	MPV	Coronavirus	Rhino/entero
LRTI	27 ^a	7	7	4	6	7	2	3
Developed IA	11 (41)	4	1	3	3	3	0	1
No IA	16 (59)	3	6	1	3	4	2	2
URTI only	50 ^b	19	9	4	10	4	3	13

Abbreviations: ADV = adenovirus; Entero = enterovirus; Flu A/B = influenza A/B; IA = invasive aspergillosis; LRTI = lower respiratory tract infection; MPV = metapneumovirus; PIV-3 = parainfluenza type-3; Rhino = rhinovirus; RSV = respiratory syncytial virus; URTI = upper respiratory tract infection.

^a9/27 patients had >1 type of respiratory virus isolated from the lower respiratory tract.

^b11/50 patients had >1 type of respiratory virus isolated from the upper respiratory tract.

using SPSS version 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were carried out with NCCSS 2004 (no. Cruncher Statistical System, Kaysville, UT, USA). Patients were followed up to 31 August 2008.

Results

Twenty-seven patients developed a probable or proven IA post-Allo-RIC; two of these patients met the criteria for a possible IA before death, but the post-mortem examination confirmed the diagnosis. It is noted that there were no cases of non-*Aspergillus* invasive fungal infections. The 4-year cumulative incidence of IA was 13% (95% confidence interval (CI) 5–24%). The median day of onset of these infections was +218 post-Allo-RIC (range +24–+2051). Only nine cases (33%) started before day +100 post-transplant, whereas nine (33%) occurred from days +101–+365 and an additional nine cases after day +365. *Aspergillus* species were isolated from 18 cases, and consisted in 14 *Aspergillus fumigatus*, 3 *A. flavus*, 3 *A. terreus* and 2 *Aspergillus niger*. In 15 cases (56%) included since 2003, the galactomannan index in blood and/or BAL was positive, being the only ($n=8$) or an additional ($n=7$) microbiological criteria for the diagnosis of IA.

Risk factors for IA

The univariate and multivariate risk factors for IA are shown in Table 3. In the multivariate model, the only three significant variables associated with a higher risk of developing an IA were the use of steroid therapy for moderate-to-severe GVHD (Hazard Ratio (HR) 2.9, 95% CI 1.1–7.6, $P=0.03$), Figure 1 occurrence of CMV disease post-transplant (HR 2.8, 95% CI 1.1–6.8, $P=0.03$), Figure 2 and occurrence of an LRTI by an RV (HR 4.3, 95% CI 2–9.4, $P<0.01$) Figure 3. All of these variables were analyzed as time-dependent variables, and thus only those events that occurred before the onset of an IA were considered as risk factors for IA. Of the 19 patients in whom steroids were begun before the occurrence of IA, the median time interval between the start of steroid therapy and the onset of IA was 117 (range 1 to 552) days. Other variables such as duration of neutropenia and the variables shown in Table 2 did not significantly affect the risk for IA. With respect to the duration of neutropenia, the median day to reach a stable neutrophil count of $0.5 \times 10^9/l$ was

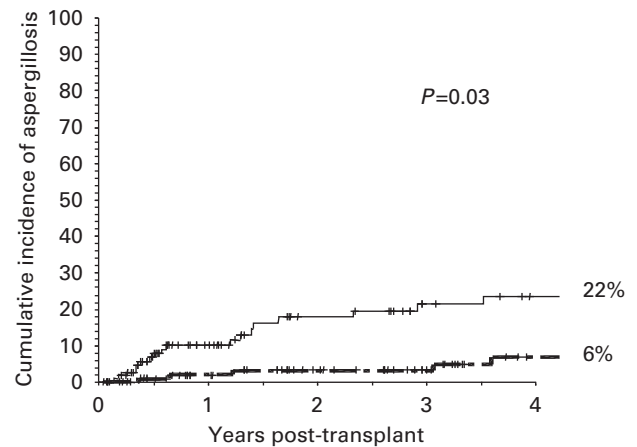


Figure 1 Four-year cumulative incidence of developing invasive pulmonary aspergillosis according to the need for steroid therapy of moderate-to-severe graft-versus-host disease. The P value refers to the multivariate Cox Regression analysis including the variable as a time-dependent covariate. The thin line refers to patients who received steroids and the dark line to those who did not receive steroids.

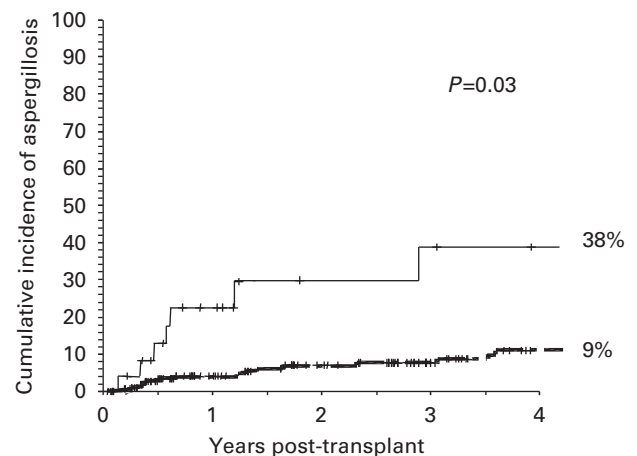


Figure 2 Four-year cumulative incidence of developing invasive pulmonary aspergillosis according to the development of CMV disease. The P value refers to the multivariate Cox Regression analysis including the variable as a time-dependent covariate. The thin line refers to patients who developed CMV disease and the dark line to those who did not develop CMV disease.

+14 (range, +7 to +23), occurring in 95% of cases between days +9 and +16; in addition, there were only nine delayed engraftments (beyond day +21) and no prolonged pancytopenia because of graft failure.

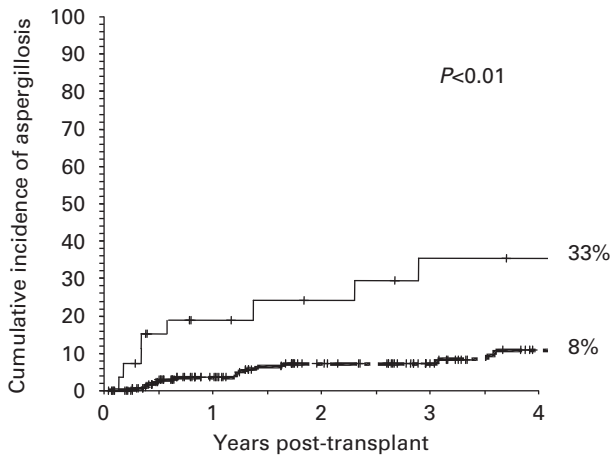


Figure 3 Four-year cumulative incidence of developing invasive pulmonary aspergillosis according to the development of lower respiratory tract infection by a conventional respiratory virus (LRTI-RV). The P value refers to the multivariate Cox Regression analysis including the variable as a time-dependent covariate. The thin line refers to patients who developed a LRTI-RV and the dark line to those who did not develop a LRTI-RV.

Types of RV isolated

During the study period, a total of 97 RVs were isolated from 77 patients, as 20 patients had at least two different RV infections diagnosed. The 4-year cumulative incidence of infection by a common RV was 32% (95% CI 24–40). The types of RVs isolated from patients with URTI and LRTI are shown in Table 3. Of the 27 patients who developed at least one episode of LRTI by an RV, 11 (41%) developed an IA after the RV infection, with a median interval of 22 days (range 1 to 61 days).

Effect of IA and RV infections on survival and non-relapse mortality

All patients received at least three days of one or more systemic therapies with anti-mold active antifungal agents (voriconazole in 11 cases, caspofungin in 10 cases and a lipid formulation of amphotericin B in 16 cases). The 4-month survival after the onset of IA was 48% (13/27 patients). We analyzed the 4-month survival according to the presence of five poor risk factors for survival recently published for allogeneic HSCT recipients with IA (monocytopenia ($<0.1 \times 10^9/l$), disseminated aspergillosis, renal failure (creatinine >1.5 times the upper limit of normal, or ULN), elevated bilirubin (>2 times the ULN), respiratory failure (required supplemental oxygen to maintain a $pO_2 > 60$ mmHg) and progression or advanced status of the underlying malignancy). The 4-month survival in patients with 0–1, 2–3 and 4–5 risk factors was 11/13 (85%), 2/9 (22%) and 0/5 (0%), respectively. The 4-year OS estimate for patients with an IA was 33%, compared with 53% for control patients (that is, those who did not develop IA) ($P=0.2$). In multivariate analysis, development of an IA (analyzed as a time-dependent post-transplant variable) did not have an effect on OS ($P=0.5$). Variables predictive of death were advanced disease phase (HR 1.9, (95% CI 1.4–2.6), ($P=0.02$)),

steroid therapy for moderate-to-severe GVHD (HR 2.2, (95% CI 1.5–3.3), ($P<0.01$)), not developing chronic GVHD (HR 4.3, (95% CI 2.8–6.6), ($P<0.01$)), occurrence of LRTI by an RV (HR 3.4, (95% CI 1.8–6.3), ($P<0.01$)) and occurrence of CMV disease post-transplant (HR 2, (95% CI 1.2–3.5), ($P=0.01$)). We also analyzed the effect of developing an IA on non-relapse mortality (NRM). The 4-year cumulative incidence of NRM for the whole group was 27% (95% CI: 21–35). The factors associated with higher NRM in the multivariate analysis were: Acute GVHD grades II–IV (HR 3, (95% CI 1.5–6) ($P=0.002$)), poor performance status (ECOG >1) (HR 2.1, (95% CI 1.1–4) ($P=0.02$)), occurrence of CMV disease (HR 2 (95% CI 1–4.1) ($P=0.05$)), and occurrence of an LRTI by an RV (HR 2.4 (95% CI 1.1–5.3) ($P=0.04$)). The development of IA (analyzed as a time-dependent post-transplant variable) did not have an effect on NRM in univariate analysis (34% for patients with an IA compared with 24% for control patients (that is, those who did not develop IA) ($P=0.3$)).

Discussion

This study represents one of the largest epidemiological studies on the occurrence of invasive mycoses after Allo-HSCT. As only cases of IA occurred, without a single case of non-*Aspergillus* molds or invasive yeast infections, the study focuses on IA. In addition, the long follow-up and detailed prospective observation of all cases lends credibility to its results. The first surprise is the lack of IA in the early post-transplant period, a period during which the first group of neutropenia-related IA has been traditionally observed.^{20–21} Possibly, the short duration of neutropenia and the low non-hematological toxicity are responsible for this early protection from IA, even without the use of the anti-*Aspergillus* drug prophylaxis. However, during longer follow-up, the risk of developing an IA was still substantial and very similar to the 15% incidence of IA traditionally observed after an Allo-HSCT with conventional myeloablative conditioning.^{3,4,22–26} In a review published in 2002, the median time to onset of IA after a total of nearly 7400 Allo-HSCT procedures was 90 days (range 19–115 days),²⁶ again emphasizing the late onset of the cases of IA in this study. When comparing the incidence of IA between studies, it is important to remember that in many studies the Kaplan–Meier P estimate method is used for analyzing the P of a post-transplant event (with at least one clear competing event). However, the recommended method is the cumulative incidence estimate, taking into account major competing events (in this case, relapse of the underlying disease is a competing event for the occurrence of an IA), as used in this study.^{18,19} Nearly always, the incidence of a post-transplant event, such as the occurrence of an IA, will be significantly lower than the probability of that same event calculated by the typical Kaplan–Meier method.

Established risk factors for IA among Allo-HSCT recipients include duration of neutropenia before engraftment (for the early post-transplant period or in case of late graft failure), use and duration of glucocorticosteroids, donor type, underlying disease, age of transplant recipient,

and presence and treatment of GVHD.^{3,4,22–26} This study is interesting because of several observations. As we closely monitored the occurrence of RV infections in all symptomatic patients, we were able to analyze their possible effect on the occurrence of IA. It has been known for a long time that apparently immunocompetent (or at least not severely immunocompromised) patients can develop an IA immediately after or during an RV lower respiratory tract infection. This association has been described mostly after influenza infections.^{20,22,27–32} In addition, recent studies from two independent Allo-HSCT groups have reported that infection by an RV (influenza virus types A and B, parainfluenza, respiratory syncytial virus, adenovirus or other RVs) was an independent risk factor for developing IA in large retrospective analyses.^{20,22,27–32} This study reinforces the role that RV infections may have in the development of IA after an Allo-HSCT. In addition, we found that only LRTIs increased the risk of developing an IA, whereas isolated URTIs had no effect. This association may reflect a direct implication of the alteration in the bronchial mucosa or pulmonary defensive mechanisms by the RV infection.^{33,34} However, it could also simply reflect how the mechanisms or risk factors by which progression of an URTI to an LRTI by an RV occurs also predispose to the development of an IA.

Not unexpectedly, the occurrence of CMV disease and the need for steroid therapy to treat moderate-to-severe aGVHD and/or cGVHD were also identified by multivariate analysis as risk factors for IA, and other well-known risk factors had an effect in univariate analysis. These findings have important practical implications, as they highlight that in Allo-RIC recipients, strategies of anti-*Aspergillus* prophylaxis should be focused on patients who require steroids and/or develop clinically significant GVHD rather than on the neutropenic phase of the procedure in which IFIs are currently very infrequent. Another relevant consequence from our observations is that RIC regimens for allografting may carry a significant risk of developing late onset IA, and the use of prophylaxis may also be justified after CMV disease or after an LRTI by an RV. In addition, such prophylaxis should also be targeted to patients with other possible recently described risk factors for IA, such as those with hyperferritinemia/iron overload²² or those with donor/recipient genetic polymorphisms, which may predispose to this opportunistic infection.³⁵ On the other hand, since the introduction of fluconazole prophylaxis, the risk of developing a severe invasive candidiasis post-transplant has decreased, and the current incidence and mortality because of yeast infections is well below 5% in most Allo-HSCT studies.²⁶ This has been confirmed in this study.

Four-month mortality after the onset of IA is very high in Allo-HSCT recipients, usually in the range of 60–80%,^{1,36–38} similar to the 52% mortality in the 27 patients included herein. Of interest is the fact that 4-month mortality differed markedly according to the no. of risk factors for 4-month survival. These variables were selected from those identified in three recent studies that analyzed the prognostic variables for survival in patients with an IA after an Allo-HSCT;^{1,36–38} their usefulness in our small patient sample suggests that these results may be useful in

clinical practice, although larger validation and prognostic model improvement studies are clearly needed.

It is unclear whether the high 4-month mortality after an IA is essentially attributable to the IA or may be a consequence of other underlying high-risk factors, which in turn increase the risk of developing such infections. It is thus interesting that in our multivariate survival analysis, we found that IA was not an independent risk factor for dying after Allo-RIC. However, owing to the limited ability of identifying all the truly independent risk factors for survival in such a complex clinical situation, we believe that this observation should be interpreted with caution, as most studies have shown that patients who develop an IA have a very poor 4–12 month survival.^{1,3} However, recent results from the Seattle group showed that survival after an IA was improved in patients who had received a RIC regimen with respect to those who received a conventional myeloablative conditioning.^{1,4} In addition, severe opportunistic infections are well known to coexist and possibly be involved in mortality in many such patients. Thus, it is probable that CMV disease and LRTI by an RV coexisted with IA at the time of death, making it difficult to interpret what the main cause of death is. On the other hand, the finding that LRTI by an RV did have a strong effect on OS lends support to the continued efforts to analyze the epidemiology and clinical effect of these infections in Allo-HSCT recipients, including virological studies in the routine post-transplant work-up of patients with URTIs and LRTIs.³⁴

In conclusion, IA is an important cause of infectious morbidity after an Allo-RIC, although it occurs late post-transplant and may not have a strong effect on survival. An important observation is the possible role of LRTI by conventional RVs as risk factors for IA.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

JL Piñana is supported by grants from the Instituto de Salud Carlos III (Expediente CM06/00139, Ministerio de Sanidad, Spain).

References

- 1 Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis* 2007; **44**: 531–540.
- 2 Martino R, Caballero MD, Canals C, San MJ, Sierra J, Rovira M *et al*. Reduced-intensity conditioning reduces the risk of severe infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 341–347.
- 3 Barnes PD, Marr KA. Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Br J Haematol* 2007; **139**: 519–531.

- 4 Fukuda T, Boeckh M, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG *et al*. Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning. *Blood* 2003; **102**: 827–833.
- 5 Martino R, Caballero MD, Canals C, Simon JA, Solano C, Urbano-Ispizua A *et al*. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning: results of a prospective multicentre study. *Br J Haematol* 2001; **115**: 653–659.
- 6 Perez-Simon JA, Martino R, Caballero D, Valcarcel D, Rebollo N, De la CR *et al*. Reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation from unrelated donors: evaluation of mycophenolate mofetil plus cyclosporin A as graft-versus-host disease prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; **14**: 664–671.
- 7 Valcarcel D, Martino R, Caballero D, Martin J, Ferra C, Nieto JB *et al*. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol* 2008; **26**: 577–584.
- 8 Martino R, Perez-Simon JA, Moreno E, Queralto JM, Caballero D, Mateos M *et al*. Reduced-intensity conditioning allogeneic blood stem cell transplantation with fludarabine and oral busulfan with or without pharmacokinetically targeted busulfan dosing in patients with myeloid leukemia ineligible for conventional conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; **11**: 437–447.
- 9 Perez-Simon JA, ez-Campelo M, Martino R, Brunet S, Urbano A, Caballero MD *et al*. Influence of the intensity of the conditioning regimen on the characteristics of acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic transplantation. *Br J Haematol* 2005; **130**: 394–403.
- 10 Subira M, Martino R, Sureda A, Altes A, Briones J, Brunet S *et al*. Safety and efficacy of low-dose amphotericin B lipid complex for empirical antifungal therapy of neutropenic fever in patients with hematologic malignancies. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2001; **23**: 505–510.
- 11 Rolston KV. The Infectious Diseases Society of America 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in patients with cancer and neutropenia: salient features and comments. *Clin Infect Dis* 2004; **39**(Suppl 1): S44–S48.
- 12 Hidalgo A, Parody R, Martino R, Sanchez F, Franquet T, Gimenez A *et al*. Correlation between high-resolution computed tomography and galactomannan antigenemia in adult hematologic patients at risk for invasive aspergillosis. *Eur J Radiol* (e-pub ahead of print 9 May 2008).
- 13 Martino R, Porras RP, Rabella N, Williams JV, Ramila E, Margall N *et al*. Prospective study of the incidence, clinical features, and outcome of symptomatic upper and lower respiratory tract infections by respiratory viruses in adult recipients of hematopoietic stem cell transplants for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; **11**: 781–796.
- 14 Parody R, Rabella N, Martino R, Otegui M, del CM, Coll P *et al*. Upper and lower respiratory tract infections by human enterovirus and rhinovirus in adult patients with hematological malignancies. *Am J Hematol* 2007; **82**: 807–811.
- 15 Williams JV, Martino R, Rabella N, Otegui M, Parody R, Heck JM *et al*. A prospective study comparing human metapneumovirus with other respiratory viruses in adults with hematologic malignancies and respiratory tract infections. *J Infect Dis* 2005; **192**: 1061–1065.
- 16 Ascioğlu S, Rex JH, De PB, Bennett JE, Bille J, Crokaert F *et al*. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 7–14.
- 17 Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 1094–1097.
- 18 Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 1001–1011.
- 19 Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 909–915.
- 20 Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* 2002; **100**: 4358–4366.
- 21 Junghans C, Marr KA, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG *et al*. Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; **8**: 512–520.
- 22 Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis* 2008; **47**: 1041–1050.
- 23 Jantunen E, Nihtinen A, Anttila VJ. Changing landscape of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2008; **10**: 156–161.
- 24 Mihiu CN, King E, Yossef-O, Taur Y, Jakubowski A, Pamer E *et al*. Risk factors and attributable mortality of late aspergillosis after T-cell depleted hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2008; **10**: 162–167.
- 25 Martino R, Subira M. Invasive fungal infections in hematology: new trends. *Ann Hematol* 2002; **81**: 233–243.
- 26 Martino R, Subira M, Rovira M, Solano C, Vazquez L, Sanz GF *et al*. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients. *Br J Haematol* 2002; **116**: 475–482.
- 27 Hasejima N, Yamato K, Takezawa S, Kobayashi H, Kadoyama C. Invasive pulmonary aspergillosis associated with influenza B. *Respirology* 2005; **10**: 116–119.
- 28 Vandenbos F, Mondain-Miton V, Roger PM, Saint-Paul MC, Dellamonica P. Invasive pulmonary aspergillosis during influenza: a fortuitous association?]. *Presse Med* 1999; **28**: 1755.
- 29 Alba D, Gomez-Cerezo J, Cobo J, Ripoll MM, Molina F, Vazquez JJ. Invasive pulmonary aspergillosis associated with influenza virus]. *An Med Interna* 1996; **13**: 34–36.
- 30 Shapiro D, Ferriss J. Influenza A and aspergillosis. *Chest* 1986; **89**: 318–319.
- 31 Lewis M, Kallenbach J, Ruff P, Zaltzman M, Abramowitz J, Zwi S. Invasive pulmonary aspergillosis complicating influenza A pneumonia in a previously healthy patient. *Chest* 1985; **87**: 691–693.
- 32 Mezger M, Steffens M, Beyer M, Manger C, Eberle J, Toliat MR *et al*. Polymorphisms in the chemokine (C-X-C motif) ligand 10 are associated with invasive aspergillosis after allogeneic stem-cell transplantation and influence CXCL10 expression in monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2008; **111**: 534–536.
- 33 Alonso JM. Immunity and pathophysiology of respiratory tract infections. *Med Mal Infect* 2008; **38**: 433–437.

- 34 Boeckh M. The challenge of respiratory virus infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Br J Haematol* 2008; **143**: 455–467.
- 35 Bochud PY, Chien JW, Marr KA, Leisenring WM, Upton A, Janer M *et al*. Toll-like receptor 4 polymorphisms and aspergillosis in stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2008; **359**: 1766–1777.
- 36 Cordonnier C, Ribaud P, Herbrecht R, Milpied N, Valteau-Couanet D, Morgan C *et al*. Prognostic factors for death due to invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation: a 1-year retrospective study of consecutive patients at French transplantation centers. *Clin Infect Dis* 2006; **42**: 955–963.
- 37 Subira M, Martino R, Franquet T, Puzo C, Altes A, Sureda A *et al*. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies: survival and prognostic factors. *Haematologica* 2002; **87**: 528–534.
- 38 Nivoix Y, Velten M, Letscher-Bru V, Moghaddam A, Natarajan-Ame S, Fohrer C *et al*. Factors associated with overall and attributable mortality in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2008; **47**: 1176–1184.

Artículo 3

Study of kidney function impairment after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. A single-center experience.

Piñana JL, Valcárcel D, Martino R, Barba P, Moreno E, Sureda A, Vega M, Delgado J, Briones J, Brunet S, Sierra J.

Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2009; 15 (1): 21-9.

Study of Kidney Function Impairment after Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. A Single-Center Experience

Jose Luis Piñana,¹ David Valcárcel,¹ Rodrigo Martino,¹ Pere Barba,¹ Estela Moreno,²
Anna Sureda,¹ Monica Vega,¹ Julio Delgado,¹ Javier Briones,¹ Salut Brunet,¹ Jorge Sierra¹

Acute renal failure (ARF) is a life-threatening complication after allogeneic stem cell transplantation (Allo-HSCT). Identification of ARF risk factors could be useful to develop preventive strategies for patients at high risk. The goal of this study was to evaluate the incidence and risk factors of ARF after reduced intensity conditioning Allo-HSCT (Allo-RIC). We included 188 consecutive patients who underwent Allo-RIC in our center between January 1999 and December 2006. ARF was defined as a decrease of at least 25% in baseline estimated glomerular filtration rate (GFR) calculated by modification of diet in renal disease (MDRD) equation. Conditioning consisted of fludarabine (Flu) 150 mg/m² in combination with busulfan (Bu) 8-10 mg/kg (n = 61), melphalan (Mel) 140 mg/m² (n = 115), cyclophosphamide (Cy) 120 mg/kg (n = 7) or low-dose total-body irradiation (TBI) 2 Gy (n = 5). Graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis consisted of cyclosporine A (CsA) alone (n = 3) or in addition to methotrexate (MTX; n = 132) or mycophenolate mofetil (MMF; n = 51). The cumulative incidence of ARF at 1 year was 52% (n = 97 patients) after Allo-RIC. Most cases (86%) occurred within the first 3 months, and the main cause was the administration of CsA (71%). The risk factors associated with ARF in multivariate analysis were: administration of MTX (hazard ratio [HR] 1.9, P = .02), more than 3 lines of therapy prior to Allo-RIC (HR 1.8, P = .01), diabetes mellitus (HR 2.1, P < .01), and GVHD grade III-IV (HR 2.1, P = .015). In multivariate analysis, ARF was an independent risk factor for 1-year nonrelapse mortality (NRM) (HR 3, 95% confidence interval [CI]: 1.5-6, P = .002). Patients who experienced ARF had lower 1-year overall survival (OS; 53% versus 74%, P < .05). ARF is a frequent complication in patients after Allo-RIC, and it has a negative impact on outcome. Identification of ARF risk factors could help to avoid exposure to nephrotoxic drugs during the follow-up in patients at high risk.

Biol Blood Marrow Transplant 15: 21-29 (2009) © 2009 American Society for Blood and Marrow Transplantation

KEY WORDS: Kidney function, Kidney injury, Acute renal failure, HSCT, Reduced-intensity conditioning Allo-RIC

INTRODUCTION

Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (Allo-HSCT) with high-dose chemotherapy conditioning is an effective treatment for several neoplastic disorders. However, the nonhe-

matologic toxicity limits the application to young (<55 years) and fit patients. Reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation (Allo-RIC) regimens have been designed to reduce toxicity and allow stem cell transplantation in the elderly, in patients with comorbidities, and in those who have been heavily pretreated. Despite a reduction in conditioning intensity, complications such as graft-versus-host disease (GVHD), infections, and drug-related toxicity may still lead to organ injury in these older or debilitated patients. Organ damage contributes to morbidity and mortality and, for this reason, remains an important issue in the Allo-RIC setting. Both the intensity of conditioning and also the type of drug combinations may influence the different patterns of organ damage in Allo-HSCT [1].

An adequate kidney function is crucial for a management of life-threatening complications of Allo-HSCT. In consequence, acute renal failure (ARF)

From the ¹Clinical Hematology and Hematopoietic Transplantation Division, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain; and ²Division of Clinical Pharmacology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 28.

Correspondence and reprint requests: Jose Luis Piñana, MD, Division of Clinical Hematology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Antoni Maria I Claret, 167, 08021 Barcelona, Spain (e-mail: jpinana@santpau.cat).

Received July 23, 2008; accepted October 13, 2008

1083-8791/09/151-0001\$36.00/0

doi:10.1016/j.bbmt.2008.10.011

has been associated with higher nonrelapse mortality (NRM) after myeloablative Allo-HSCT [2-4]. ARF frequently develops together with other posttransplant complications such as GVHD, respiratory infections, drug-related toxicities, and comorbidities, leading to a multiorgan dysfunction syndrome (MODS) in a high number of these patients [4-6]. As a result, ARF requiring dialysis occurs in a high proportion of these patients and leads to a high mortality rate, ranging from 75% to 100% [7-9].

Although the incidence and severity of ARF after Allo-RIC seems lower than in myeloablative regimens [10], incidences of severe ARF of about 30% to 40% have been reported [11,12]. Furthermore, it seems that severe ARF is associated with lower survival in low-dose total body irradiation (TBI)-based Allo-RIC regimens [11,12]. Of note, the impact of ARF in patients undergoing Allo-RIC may be of highest importance, as these patients usually have poorer performance status and other comorbidities.

In view of these concerns, we assessed renal function as estimated glomerular filtration rates (GFR) calculated by modification of diet in renal disease (MDRD) equation. We report our experience in a large cohort of patients who underwent Allo-RIC in a single center. We analyzed ARF incidence and risk factors, and also the impact of developing ARF on outcome. To the best of our knowledge, the incidence and risk factors of ARF after fludarabine (Flu) plus an alkylating agent (busulfan (Bu) or melphalan (Mel))-based conditioning Allo-RIC have not been systematically analyzed.

PATIENTS AND METHODS

Patients

We included 188 consecutive patients who underwent Allo-RIC in our institution between January 1999 and December 2006. The reason to use Allo-RIC was age older than 50 years ($n = 131$), the presence of severe comorbidities ($n = 29$), or to have had undergone prior stem cell transplantation (SCT; $n = 28$). The sources of donor hematopoietic cells were granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)-stimulated peripheral blood hematopoietic cells in most cases (94%) and bone marrow in the remainder (6%). Patient characteristics are detailed in Table 2.

Conditioning Regimen and GVHD Prophylaxis

We used conditioning regimens as described elsewhere [13]. Briefly, Flu 150 mg/m^2 was combined with Bu $8\text{-}10 \text{ mg/kg}$ for myelogenous neoplasm ($n = 61$), Mel $70\text{-}140 \text{ mg/m}^2$ for lymphoid neoplasm including multiple myeloma (MM; $n = 115$), with Cy clophosphamide (CFM) 120 mg/kg for solid tumors ($n = 7$) or with low-dose TBI 2 Gy for chronic myelogenous

leukemia (CML) ($n = 4$). One patient with lymphoblastic lymphoma was treated with CFM and low-dose TBI as RIC. GVHD prophylaxis consisted of cyclosporine A (CsA) from day -7 in all except 2 patients who received tacrolimus. The dose was adjusted to blood levels (between 200 and $300 \text{ }\mu\text{g/mL}$). Methotrexate (MTX) ($n = 132$) was administered on days $+1$, $+3$, and $+6$ days (10 mg/m^2) with folinic acid rescue. Myophenolate mofetil (MMF) was used instead of MTX in 51 patients; it was started on day 0 (at least 10 hours after the infusion of progenitors) at a dose of 1 g 3 times daily (15 mg/kg/8 hours). MMF was continued until day $+30$ and then tapered.

ARF Assessment

All patients were hospitalized for the procedure. Daily blood analyses were performed from the day of admission until discharge. Thereafter, blood analyses were performed weekly during the first 100 days and monthly if no complications appeared. GFR was calculated by MDRD equation as follows: $\{\text{GFR (mL/min per } 1.73 \text{ m}^2) = 186 * \text{PCr} - 1.154 * \text{age} - 0.203 (* 0.742 \text{ if female})\}$ [14,15]. These parameters were measured on days -9 , $+15$, $+30$, $+60$, $+120$, $+180$, $+360$, and whenever an increase in baseline creatinine was detected. ARF was classified on the basis of estimated GFR, as in previous HSCT studies [10-12,16]. ARF was defined as a decrease of at least 25% of baseline GFR when creatinine levels rise above the standard values. ARF gradation is shown in Table 1. ARF caused by baseline disease progression was excluded from the analysis, as this was considered a competitive event. We also excluded ARF in the context of MODS when it was the last event before death.

Statistical Data

The main endpoints of the study were the incidence of ARF, the identification of its risk factors, and the impact of developing ARF on acute and chronic GVHD (aGVHD, cGVHD), overall survival (OS), NRM, and relapse. The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan-Meier curves [17], whereas NRM and relapse were calculated using cumulative incidence estimates, taking into account the competing risk structure [18,19]. Other post-transplantation outcomes that were calculated using

Table 1. Classification of Grades of Severity of ARF

Grade 0	Decrease in estimated GFR < 25% of the baseline value
Grade 1	Correspond to a less than 2-fold rise in serum creatinine concentration with a decrease in estimated GFR >25% but <50% of the baseline value.
Grade 2	A decrease in estimate GFR >50% of baseline GFR but not requiring dialysis
Grade 3	grade 2 parameters but requiring dialysis

AFR indicates acute renal failure; GFR, glomerular filtration rate.

Table 2. Demographics and Baseline Comorbid Conditions in Patients When Categorized by ARF

Variables	ARF at 1 Year (n = 97)	Without ARF (n = 91)	P Value
Median age in years (range)	55 (18-71)	53 (18-73)	.6
Sex Male n, (%)	63 (65)	55 (60)	.3
Unrelated Donor, n (%)	19 (19)	13 (14)	.5
Underlying disease, n (%)			ns
• Acute leukemia/MDS/MPS	31 (32)	38 (41)	
• CLL	11 (11)	5 (5)	
• NHL	22 (22)	17 (19)	
• HD	16 (16)	9 (11)	
• MM	11 (11)	18 (20)	
• Solid tumors and others	6 (5)	4 (4)	
Number of Prior therapies, mean ± SD	2.6 ± 1.5	2.4 ± 1.4	.5
Baseline GFR (mL/min/1.73 m ²), mean ± SD	75.6 ± 17	75.4 ± 24	.9
Prior CRD, n (%)	22 (23)	25 (27)	.6
HSTC source BM, n (%)	8 (8)	4 (5)	.3
Comorbidities, n (%)			
• Diabetes	15 (15)	7 (8)	.1
• HTA	24 (25)	16 (17)	.2
• Cardiomyopathy	17 (17)	11 (12)	.3
Advanced disease status at HSCT, n (%)	70 (72)	61 (67)	.5
Mean levels of CsA (ng/mL) +/- SD			
• During day +15	183 ± 62	184 ± 62	.9
• During day +30	202 ± 61	209 ± 58	.4
Median follow-up in days (range)	479 (8-2947)	933 (48-2759)	.01
Cumulative Incidence of relapse at 1 year, % (95% CI)	20 (13-29)	26 (18-37)	.5
Overall survival at 1 year	54%	70%	.04

ARF indicates acute renal failure; MDS, myelodysplastic syndrome; MPS, myeloproliferative syndrome; GFR, glomerular filtration rate; CLL, chronic lymphocytic leukemia; NHL, non-Hodgkin lymphoma; HD, Hodgkin disease; MM, multiple myeloma; SD, standard deviation; N, number; CRD, chronic renal dysfunction; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; BM, bone marrow source; HTA, arterial hypertension; CsA, cyclosporine A; GVHD, graft-versus-host disease.

cumulative incidence estimates were hematopoietic recovery, ARF, and GVHD. Univariate analyses of the association of various clinical risk factors with these latter posttransplantation outcomes were calculated using univariate Cox regression models, whereas the log-rank test was used for OS [18,19]. Multivariate analyses were performed by Cox proportional hazards regression, with inclusion of those variables with a value of $P < .1$ in the prior univariate testing. The assumption of proportional hazards over time was tested for all explanatory covariates using a time-dependent covariate. To analyze the impact of ARF and GVHD in Allo-RIC outcome, these variables were entered as time-dependent covariates. Quantitative variables that were found to have an impact on any outcome were reanalyzed as categorical variables. Tests of significance were 2-sided, with significance level of $P = .05$ or less. All statistical analyses were performed using SPSS version 15.0 (SPSS, Chicago, IL), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were carried out with NCSS 2004 (Number Cruncher Statistical System,

Kaysville, UT). If ARF, aGVHD, or cGVHD were found to have an impact on posttransplantation outcomes in the final multivariate Cox analysis, plots were constructed to visually illustrate the effects of each variables on these outcomes, as described elsewhere [20].

RESULTS

Patients Characteristics

No demographic differences were seen between the 2 groups of patients when categorized as with or without ARF (Table 2). Comorbidity conditions were equally distributed between the 2 groups. Sex, age, diagnosis, disease status, type of donor, type of transplant, conditioning regimen, and a number of prior transplants did not differ between patients with and without ARF.

ARF: Incidence, Etiology, and Risk Factors

After a median follow-up of 49 months (range: 4-98) for survivors, 97 patients developed ARF for a 1-year cumulative incidence of 52% (95% confidence interval [CI] 45-60). The median time to the onset of ARF was 31 days (range: 0-320 days). ARF occurred mainly within the first 3 months after Allo-RIC, as 79 (81%) of 97 patients developed ARF before day +100. Most of the patients (86%) developed grade 1 ARF, 10% developed grade 2, and only 4% developed grade 3.

The causes of ARF are shown in Table 3. ARF was directly attributable to CsA in 69 (71%) patients. In 21% of these patients, however, the cause of ARF was attributed to CsA in addition to other transplant-related complications such as GVHD, absence of fluid intake, dehydration, and antimicrobial drugs (amphotericin and aminoglycoside). We did not find any correlation

Table 3. Etiology and Grades of ARF

Main Causes of ARF	n	%
CsA alone	48	50
CsA + sinusoidal obstruction syndrome	3	3
CsA + dehydration	9	9
CsA + GVHD	4	4
CsA + antimicrobial therapy	5	5.2
Total CsA	69	71
Multiorgan failure	3	3.1
Microangiopathy	8	8.2
Dehydration	6	6.2
Adenovirus interstitial nephritis	1	1
Bilateral lithiasis obstruction	1	1
Diverse pharmacological toxicity	3	3.1
Undetermined causes	6	6.2
Total	97	100
Grade of ARF	n	%
Grade 1	84	86
Grade 2	9	10
Grade 3	4	4

CsA indicates cyclosporine A; ARF, acute renal failure; GVHD, graft-versus-host disease.

between the median of CsA blood levels at +15 and +30 days and the development of ARF.

Concerning the risk factors for ARF, demographic baseline characteristics and severe aGVHD were analyzed. Univariate and multivariate proportional hazard ratio models are shown in Table 4. The analyses were performed at +100 and +180 days and 1 year after the Allo-RIC. At day +100 the variables associated with higher risk of ARF were: diabetes mellitus (DM) (HR 2.1, CI 95% 1.2-3.8; $P = .007$), having received more than 3 prior lines of therapy (HR 1.8, CI 95% 1.1-2.9; $P = .01$), and the use of MTX as GVHD prophylaxis (HR 1.9, CI 95% 1.1-3.5; $P = .02$). The impact of MTX and the number of prior therapies were no longer observed after day +100. The impact of acute GVHD (aGVHD) grade III-IV appears as the only risk factor after day +100, (HR 2.1, CI 95% 1.2-3.7 and HR 2, CI 1-3.5 at +180 days and 1 year, respectively, $P < .02$).

GVHD

Although severe aGVHD appeared as a risk factor for ARF, grade II-IV aGVHD occurred in 34% (95% CI 26-44) of patients who developed previously ARF compared to 25% (95% CI 17-37) of patients without ARF ($P = .1$). Patients who developed ARF had a similar cumulative incidence of cGVHD (72% versus 62%, $P = .3$, respectively). The severity of cGVHD was not significantly different between the 2 groups [41% (95% CI 29-58) and 30% (95% CI 19-47), for patients with and without ARF ($p=0.2$)].

NRM

Fifty-five (29%) patients died because of NRM after a median follow-up of 518 days (range: 8-2947). Median time to death was 115 days (range: 8-1072). The +100, +180 days, and 1-year cumulative

Table 4. Cumulate Incidence and Multivariate Cox Regression Hazard Models Analysis of Risk Factors for ARF

Variables	ARF											
	Day +100 (N = 79)				Day +180 (N = 90)				1 Year (N = 97)			
	Univariate Analysis		Cox. Regr.		Univariate Analysis		Cox Regr.		Univariate Analysis		Cox Regr.	
	Cumulative incidence % (95% CI)	P Value	HR (95% CI)	P Value	Cumulative incidence % (95% CI)	P Value	HR (95% CI)	P Value	Cumulative incidence % (95% CI)	P Value	HR (95% CI)	P Value
Conditioning regimen												
• Melphalan	48 (40-59)		—		51 (43-62)		—		56 (48-66)		—	
• Busulfan+others	25 (16-38)	.01	—		37 (31-52)	.053	—		43 (32-58)	.087	—	
Acute GVHD prophylaxis												
• MTX	46 (38-56)		1.9 (1.1-3.5)	.01	49 (41-59)		—		53 (45-63)		—	
• Without	9 (4-21)	.02	—		40 (29-56)	.1	—		50 (34-62)	.26	NA	
Donor												
• Related	39 (32-48)		—		44 (37-53)		—		44 (37-53)		—	
• Unrelated	47 (33-68)	.5	NA		58 (43-79)	.3	NA		58 (43-79)	.3	NA	
Diagnosis												
• Myeloid disease	26 (17-39)		—		37 (27-51)		—		44 (33-58)		—	
• Lymphoid disease	48 (40-59)	.01	—		51 (42-62)	.051	—		56 (47-66)	.081	—	
Status Disease												
• Advanced	45 (37-55)		—		49 (41-58)		—		54 (46-64)		—	
• Nonadvanced	32 (21-47)	.065	—		41 (30-56)	.2	NA		46 (35-62)	.19	NA	
No. therapies before HSCT												
• <3 lines	32 (23-48)		—		40 (31-52)		—		47 (38-59)		—	
• 3 or more lines	50 (40-62)	.02	1.8 (1.1-2.9)	.01	52 (43-64)	.08	1.5 (0.97-2.5)	.065	57 (47-68)	.095	—	
Comorbidities												
Diabetes*												
- yes	65 (47-91)		2.1 (1.2-3.8)	.007	65 (47-91)		1.5 (0.98-3)	.08	71 (53-95)		—	
- no	38 (31-46)	.018	—		44 (37-53)	.037	—		49 (42-58)	.035	—	
HTA												
- yes	43 (30-62)		—		51 (37-69)		—		59 (42-58)		—	
- no	40 (33-49)	.9	NA		45 (38-54)	.7	NA		50 (43-59)	.56	NA	
Cardiomyopathy												
- yes	37 (23-60)		—		52 (36-75)		—		59 (43-81)		—	
- no	41 (34-50)	.7	NA		45 (38-54)	.7	NA		50 (43-59)	.5	NA	
Acute GVHD III-IV												
• yes	64 (45-91)		—		78 (60-100)		2.1 (1.2-3.7)	.015	78 (60-100)		2 (1-3.5)	.019
• no	38 (30-47)	.048	—		44 (36-53)	.01	—		51 (43-61)	.02	—	

ARF indicates acute renal failure; CI, confidence interval; COX. Regr, Cox regression hazard model; HR, hazard ratio; GVHD, graft-versus-host disease; MTX, methotrexate. No., number; HTA, arterial hypertension.

*DM was defined when patient needed insulin or oral antidiabetic therapy to control glycemia before transplant.

incidence of NRM for the whole group was 13% (95% CI: 9-19), 17% (95% CI: 12-23), and 23% (95% CI: 17-29), respectively. The most common causes of NRM were GVHD and infections (25 patients died from GVHD and infection, 17 from GVHD without infection, and 5 from infection without GVHD). The other deaths were attributed to central nervous system bleeding (n = 2), sinusoid obstruction syndromes (n = 2), sudden death (n = 2), progressive multifocal encephalopathy (n = 1), and microangiopathy (n = 1).

The variables associated with higher NRM at +100 days and 1 year in univariate analyses are shown

in Table 5: in multivariate analyses, the variables associated with NRM were: MTX-GVHD prophylaxis (HR of 0.3 [CI 95% 0.2-0.6]) (P = .001), more than 3 prior therapies (HR of 3.3 [CI 95% 1.4-7.6]) (P = .001), DM (HR 3.2 [CI 95% 1.4-7.3]) (P = .03), aGVHD grade II-IV (HR 5.1 [CI 95% 2.3-11.2]) (P = .001), and ARF (HR 3.4 [CI 95% 1.5-8.1]) (P = .002) (Table 5). The effect of ARF, DM and aGVHD on NRM are shown in figures 1. a, b and c. The incidence of NRM at 1 year in patients who developed ARF was 33% compared to 12% for patients with normal renal function (P = .001). Moreover, the NRM was even higher in those patients who

Table 5. Cumulate Incidence and Multivariate Cox Regression Hazard Models analysis of Risk Factors for NRM

Variables	Non Relapse Mortality (NRM)							
	Day +100				1-year			
	Univariate Analysis		Cox Regr.		Univariate Analysis		Cox Regr.	
	Cumulative incidence % (95% CI)	P Value	HR (95% CI)	P Value	Cumulative incidence % (95% CI)	P Value	HR (95% CI)	P Value
Conditioning regimen								
• Melphalan	8 (4-15)				25 (18-34)			
• Busulfan	10 (5-21)	.7	NA		19 (12-32)	.8	NA	
Acute GVHD prophylaxis								
• MTX	13 (8-20)				16 (11-24)		0.3 (0.2-0.6)	.001
• Without	19 (12-33)	.3	NA		39 (28-54)	.003	—	
Diagnosis								
• Myelogenous disease	14 (7-25)				22 (15-35)			
• Lymphoid disease	7 (4-14)	.5	NA		24 (18-34)	.5	NA	
Status disease								
• Advanced	17 (11-25)		—		21 (15-30)			
• Nonadvanced	10 (5-22)	.1	—		21 (13-35)	.2	NA	
No. therapies before Allo-RIC								
• = or <3 lines	7 (4-15)		—		12 (6-20)		—	
• >3 lines	20 (14-31)	.02	3.3 (1.4-7.6)	.005	26 (18-36)	.059	2.9 (1.5-5.5)	.001
DONOR								
• Related	11 (7-17)		—		19 (13-26)		—	
• Unrelated	28 (16-49)	.036	—		43 (30-65)	.006	—	
Comorbidities								
• Diabetes								
- yes	36 (21-63)		3.2 (1.4-7.3)	.004	45 (29-72)		2.2 (1.1-4.4)	.03
- no	11 (7-17)	.003	—		20 (15-27)	.002	—	
• HTA								
- Yes	13 (6-28)				22 (13-40)			
- No	14 (10-21)	.9	NA		19 (14-26)	.8	NA	
• Cardiomyopathy								
- yes	11 (4-31)				25 (13-47)			
- no	14 (10-21)	.5	NA		19 (14-27)	.8	NA	
Acute GVHD II-IV								
• Yes	34 (24-49)		5.1 (2.3-11.2)	.001	46 (35-62)		4.3 (2.3-8.1)	<.001
• No	7 (4-13)	<.001	—		13 (8-20)	<.001	—	
Chronic GVHD								
• Limt/Ext	—		NA		13 (8-22)		—	
• No	—		—		7 (4-16)	.1	—	
ARF at day +100								
• Yes	25 (17-37)		3.4 (1.5-8.1)	.005	35 (26-48)			
• No	5 (2-12)	.002	—		14 (9-22)	.002	NT	
ARF at 1-year								
• Yes	—				33 (25-44)		3 (1.5-6)	.002
• No	—		NT		12 (7-21)	.001	—	

CI, indicates confidence interval; Cox. Regr, Cox regression hazard model; HR, hazard ratio; GVHD, graft-versus-host disease; MTX, methotrevate, No., number; HTA, arterial hypertension; Limt, limited; Ext, extended; ARF, acute renal failure; RIC, reduced intensity conditioning; NA, not applicable; NT, not tested.

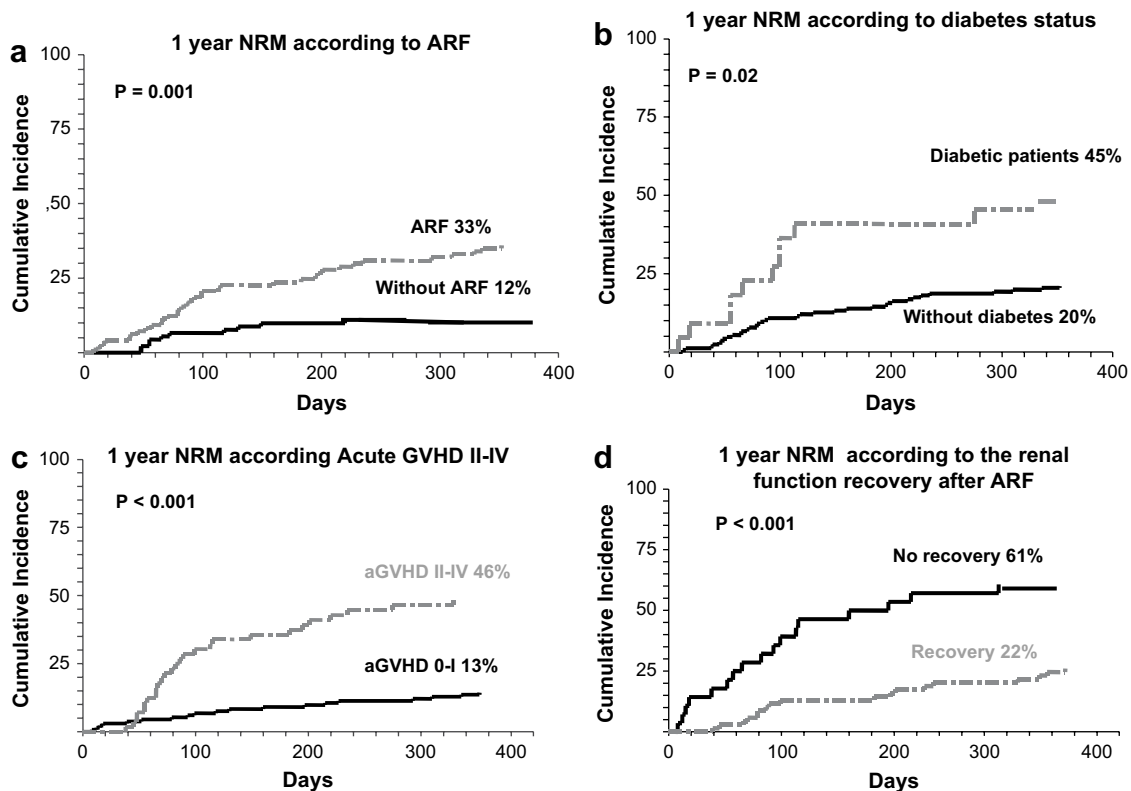


Figure 1. NRM curves corresponding to (a) ARF development, (b) diabetic status, (c) aGVHD grade II-IV, and (d) according to kidney function recovery.

did not recover normal kidney function (61%, 95% CI 45-82) than in those who did (22%, 95% CI 14-34) ($P \leq .001$) (Figure 1.d).

Relapse and OS

The cumulative incidence of relapse at median follow-up of 49 months was 30% (CI 95% 22-40) for the whole group. Patients who developed ARF had a 1-year cumulative incidence of relapse of 20% (95% CI 13-29) compared to 26% (95% CI 18-37) of patients without ARF ($P = .5$). The 1-year OS was lower for patients who developed ARF (54% versus 70%, $P = .04$, Figure 2.a). In addition, OS decreased according to the severity of ARF. Patients with ARF grade 2-3 had an OS at 1 year of 33% compared to 59% of patients with grade 1 and 70% of patients without ARF ($P = .003$) (Figure 2b).

DISCUSSION

The incidence of ARF in this cohort of patients undergoing Allo-RIC was (52%) similar to that observed in previous reports [2,4,5,7,9,12]. However, most patients with ARF (86%) developed grade 1 ARF, and grade 2-3 was observed only in 14% of patients. These results compares favorably with historic results with myeloablative regimens [6,10]. Nevertheless, 2 recent studies in nonmyeloablative Allo-HSCT have

reported higher incidence of ARF (80%-90%) and a more severe form (30%-40% grade 2 or greater) [11,12]; this discrepancy compared to our study could be explained in part by the substantial differences in the conditioning regimens, GVHD prophylaxis, and especially by the much higher targeted dose of CsA than used in our study.

The main cause of ARF in our study was drug related (mainly the use of CsA), which has been previously reported as the main cause of ARF in the posttransplant setting [21]. By decreasing the CsA dose, kidney function returned to normal in most of our patients. As in other studies [2,4,12], we did not find any relationship between plasma levels of CsA and the development of ARF. Nevertheless, this could perhaps be explained by the adjustment of CsA levels to between 200-300 ng/mL.

Risk factors for the development of ARF had been delineated by several studies in a myeloablative Allo-HSCT setting [6,22,23]. However, Allo-RIC differs widely from myeloablative Allo-HSCT in terms of conditioning therapy, the patient's comorbidity profile, and posttransplantation-related complications. We identified 4 risk factors for ARF: (1) more than 3 lines of chemotherapy prior to Allo-RIC, (2) the use of MTX as GVHD prophylaxis regimen, (3) aGVHD grade III-IV, and (4) DM. MTX and number of prior chemotherapy have not been reported previously as risk factors for ARF in Allo-RIC. Heavily pretreated

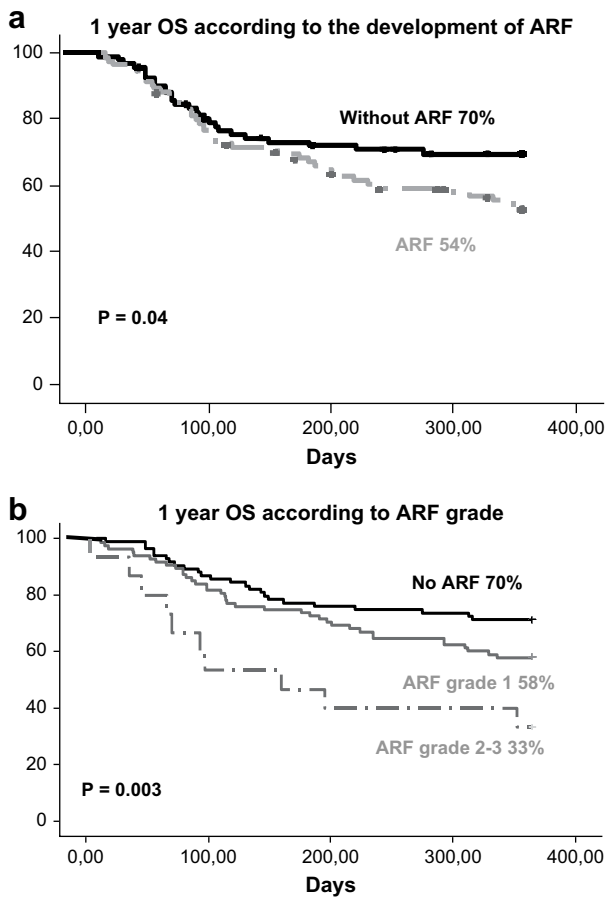


Figure 2. KM 1-year OS curves (a) according to ARF and (b) according to ARF grades.

patients may have had prior kidney damage, and although this may have been subclinical in the evaluation before SCT, it could predispose these patients to develop ARF in subsequent exposure to nephrotoxic drugs. MTX is a well-known nephrotoxic drug [24], even when it is used at low doses, and it is not surprising that it can be related to ARF in patients undergoing Allo-RIC. The absence of prior reports regarding the relationship between MTX and ARF in nonmyeloablative transplants seems to be related to the use of MMF instead of MTX as GVHD prophylaxis [9,11,12].

The relationship between ARF and cGVHD has been described by Parikh et al. [11], who showed that the development of ARF was associated with higher incidence of cGVHD, which may be because of the tapering of CsA [25] in those patients who develop ARF. In our study, as in the study by Kersting et al. [12], we found that the development of severe aGVHD was a risk factor for ARF, which could be related to the use of nephrotoxic drugs and the dehydration. Probably the relationship is bidirectional, and both complications are closely linked.

The impact of DM in the allo-HSCT is controversial. One study has shown that preexisting

diabetes is associated, albeit weakly, with ARF [10], whereas a recent multivariate analysis by Kersting et al. [12], reported that the absence of preexisting vascular disease (including diabetes, myocardial infarction, angina pectoris, and cerebrovascular event) was an independent risk factor for the development of ARF. The authors considered that these controversial results could be explained by the fact that physicians monitored the CsA levels and creatinine more closely in this vulnerable group of patients. Moreover, in a recent study with patients that underwent an Allo-RIC, DM was not associated with ARF [9], and the authors supported the use of RIC regimens for diabetic patients who were not eligible for myeloablative transplantation because of preexisting impaired renal function.

Our results, however, indicated that DM was a strong factor associated with the development of ARF throughout the transplant, although the significance is lower after day +100. Diabetic nephropathy is a leading cause of end-stage renal disease and CsA, which is the main cause of renal impairment in HSCT, has been associated with kidney impairment in diabetic patients [26]. It is also important to emphasize that CsA induces an abnormal glucose metabolism by decreasing insulin release and inducing peripheral insulin resistance in diabetic patients undergoing kidney transplantation [27]. Moreover, steroids commonly used in this setting could also impair glucose metabolism and may also lead to renal damage. Therefore, it is highly probable that diabetic status in conjunction with kidney (CsA) and glucose metabolism (steroids) injuries could have a synergic effect on renal damage. Taking all of this into account, it seems very important to closely monitor diabetic patients and, if possible, to avoid other known toxic drugs such as MTX or nonsteroid anti-inflammatory drugs. There is some evidence in heart transplantation that substituting CsA for sirolimus improves renal recovery compared to lower dose CsA plus sirolimus [28].

Other studies on autologous and allogeneic HSCT have found that the need for mechanical ventilation (MV) is the strongest risk factor associated with ARF and implies a high mortality rate [9,29]. However, MV, especially in the context of respiratory infections, is usually accompanied by exposure to antimicrobial drugs with a high nephrotoxic profile, leading to kidney failure. This setting often leads to dysfunction of other organs (liver, heart, bone marrow) and subsequent MODS. The association between MV and ARF is controversial in the above-mentioned studies, as it was not reported how many patients who needed MV had respiratory failure in the context of MODS. As well, liver failure has also been associated with severe ARF in myeloablative Allo-HSCT [22], without data about how many patients with liver dysfunction had MODS. Because MODS is a well-characterized

and unified syndrome that involves 2 or more organ systems [30], we did not consider each organ failure separately in the analysis. We considered MODS as a single entity because of the concomitant failure of multiple interreliant organ systems.

Although the development of an RIC regimen has allowed patients who are ineligible for standard Allo-HSCT to benefit from allogeneic therapy, NRM remains a significant obstacle to success with Allo-RIC. Our study showed that the development of ARF was strongly related to higher NRM and lower OS. These results are in line with preceding reports on myeloablative and RIC regimens [2,11]. All these reports enhance the suggestion that renal function is critical not only in Allo-HSCT but also in Allo-RIC patients. Moreover, as patients who undergo Allo-RIC are older and have other comorbidities, they are more vulnerable to complications. In our study, we also identified other variables as independent risk factors for NRM. These were DM, aGVHD, no MTX as GVHD prophylaxis, and more than 3 lines of chemotherapy before Allo-RIC. In our study, MTX appears to be protective against NRM, whereas it is associated with increased ARF; this apparent contradiction can be explained by the fact that MTX shows collinearity with an HLA matched sibling donor, whereas MMF show collinearity with unrelated donors (URD). One hundred twenty-five (80%) of 156 patients with HLA familiar donor received MTX as GVHD prophylaxis by only 7 (22%) of 32 patients with URD ($P < .0001$). In our study, URD had a higher cumulative incidence NRM compared to an HLA matched sibling donor: (43% [95% CI 30-65]) versus (19% [95% CI 13-26]), respectively ($P = .006$).

In conclusion, we found that the incidence of severe ARF seems to be lower in Fludarabine plus alkylating agent-based RIC than myeloablative regimens. Despite this, ARF remains a life-threatening complication in this setting. DM, the use of MTX, having received more than 3 lines of treatments before transplant, and the development of severe aGVHD are the main risk factors associated with ARF in the patients undergoing Allo-RIC. The development of preventive strategies to avoid ARF is required in these patients.

ACKNOWLEDGMENTS

Special thanks to Carolyn Newey for her invaluable language aid in the manuscript drafting. J.L. Piñana is supported by grants from the Instituto de Salud Carlos III (CM06/00139, Ministerio de Sanidad, Spain).

Financial disclosure: This work is supported by the Ferrer Salat award from the fundación de investigación Sant Pau, Barcelone, Spain.

REFERENCES

1. Ferry Christèle, Socié Gérard. Busulfan-cyclophosphamide versus total body irradiation-cyclophosphamide as preparative regimen before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: what have we learned? *Exp Hematol.* 2003;31:1182-1186.
2. Parikh CR, McSweeney P, Schrier RW. Acute renal failure independently predicts mortality after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplant. *Kidney Int.* 2005;67:1999-2005.
3. Kamil E, Latta H, Johnston W, Feig S, Bergstein J. Radiation nephritis following bone marrow transplantation. *Kidney Int.* 1978;14.
4. Kersting S, Koomans HA, Hene RJ, Verdonck LF. Acute renal failure after allogeneic myeloablative stem cell transplantation: retrospective analysis of incidence, risk factors and survival. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39:359-365.
5. Parikh CR, McSweeney PA, Korular D, et al. Renal dysfunction in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Kidney Int.* 2002;62:566-573.
6. Hingorani SR, Guthrie K, Batchelder A, et al. Acute renal failure after myeloablative hematopoietic cell transplant: incidence and risk factors. *Kidney Int.* 2005;67:272-277.
7. Zager RA, O'Quigley J, Zager BK, et al. Acute renal failure following bone marrow transplantation: a retrospective study of 272 patients. *Am J Kidney Dis.* 1989;13:210-216.
8. Hahn T, Rondeau C, Shaukat A, et al. Acute renal failure requiring dialysis after allogeneic blood and marrow transplantation identifies very poor prognosis patients. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:405-410.
9. Parikh CR, Sandmaier BM, Storb RF, et al. Acute renal failure after nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1868-1876.
10. Chirag RP, Robert WS, Barry S, et al. Comparison of ARF after myeloablative and nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation [abstract]. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:502-509.
11. Parikh CR, Yarlagaadda SG, Storer B, Sorror M, Storb R, Sandmaier BM. Impact of acute kidney injury on long-term mortality after nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:309-315.
12. Kersting S, Dorp SV, Theobald M, Verdonck LF. Acute renal failure after nonmyeloablative stem cell transplantation in adults. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:125-131.
13. Martino R, Caballero MD, Canals C, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning: results of a prospective multicentre study. *Br J Haematol.* 2001;115:653-659.
14. Smith H. Comparative physiology of the kidney. In: Smith H, editor. *The Kidney: Structure and Function in Health and Disease.* New York: Oxford University Press; 1951 p. 520-574.
15. Manjunath G, Guruprasad MJ, Levey AS. Prediction equations to estimate glomerular filtration rate: an update. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2001;10:785-792.
16. Merouani A, Shpall EJ, Jones RB, Archer PG, Schrier RW. Renal function in high dose chemotherapy and autologous hematopoietic cell support treatment for breast cancer. *Kidney Int.* 1996;50:1026-1031.
17. Kaplan EL, Meier P. Non parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc.* 1958;53:457-481.
18. Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: regression modeling. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28:1001-1011.
19. Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28:909-915.
20. Baron F, Maris MB, Sandmaier BM, et al. Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol.* 2005;23:1993-2003.

21. Atkinson K, Biggs JC, Hayes J, et al. Cyclosporin A associated nephrotoxicity in the first 100 days after allogeneic bone marrow transplantation: three distinct syndromes. *Br J Haematol.* 1983; 54:59-67.
22. Létourneau I, Dorval M, Bélanger R, Légaré M, Fortier L, Leblanc M. Acute renal failure in bone marrow transplant patients admitted to the intensive care unit. *Nephron J.* 2002;90:408-412.
23. Gruss E, Bernis C, Tomas JF, et al. Acute renal failure in patients following bone marrow transplantation: prevalence, risk factors and outcome. *Am J Nephrol.* 2008;15:473-479.
24. Widemann BC, Adamson PC. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. *Oncologist.* 2006;11:694-703.
25. Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R, et al. Alternating-day cyclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft-v-host disease. *Blood.* 1988;72:555-561.
26. Parving HH, Tarnow L, Nielsen FS, et al. Cyclosporine nephrotoxicity in type 1 diabetic patients. A 7-year follow-up study. *Diabetes Care.* 1999;22:478-483.
27. Qiu J, Tu Z, Shi Y, et al. Interference of cyclosporine on glucose metabolism: potential role in chronic transplantation kidney fibrosis. *Transplant Proc.* 2006;38:2065-2068.
28. Potter BJ, Giannetti N, Edwardes MD, Cecere R, Cantarovich M. Calcineurin inhibitor substitution with sirolimus vs. reduced-dose calcineurin inhibitor plus sirolimus is associated with improved renal dysfunction in heart transplant patients. *Clin Transplant.* 2007;21:305-308.
29. Schrier RW, Parikh CR. Comparison of renal injury in myeloablative autologous, myeloablative allogeneic and non-myeloablative allogeneic haematopoietic cell transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:678-683.
30. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest physicians/ Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992;101: 1644-1655.

Artículo 4

Early and late neurological complications after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation.

Barba P, Piñana JL, Valcárcel D, Querol L, Martino R, Sureda A, Briones J, Delgado J, Brunet S, Sierra J.

Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2009 Nov; 15(11):1439-46.

Early and Late Neurological Complications after Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Stem Cell Transplantation

Pere Barba,¹ Jose Luis Piñana,¹ David Valcárcel,¹ Luis Querol,² Rodrigo Martino,¹
Anna Sureda,¹ Javier Briones,¹ Julio Delgado,¹ Salut Brunet,¹ Jorge Sierra¹

Neurological complications (NC) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) are common and life-threatening in most cases. They may involve either the central (CNS) or peripheral nervous system (PNS). The aim of this study was to describe incidence and characteristics of NC after reduced-intensity conditioning allo-HSCT (allo-RIC), an unexplored setting. For this purpose, we reviewed 191 consecutive patients who underwent this procedure at our institution between January 1999 and December 2006. The median follow-up for survivors was 48 months (3-98 months). RIC included fludarabine (Flu) 150 mg/m² in combination with busulfan (Bu) 8-10 mg/kg (n = 61), melphalan (Mel) 70-140 mg/m² (n = 119), cyclophosphamide (Cy) 120 mg/kg (n = 7), or low-dose total body irradiation (TBI) 2 Gy (n = 4). Graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis consisted of cyclosporine A (CsA) in combination with methotrexate (MTX; n = 134) or mycophenolate mofetil (MMF; n = 52). Twenty-seven patients (14%) developed a total of 31 NC (23 CNS and 8 PNS) for a 4-year cumulative incidence of 16% (95% confidence interval [CI] 11-23). CNS complications included nonfocal encephalopathies in 11 patients, meningoencephalitis in 5 patients, and stroke or hemorrhage in 4. PNS complications consisted of 5 cases of mononeuropathies and 3 cases of polyneuropathies. Drug-related toxicity was responsible for 10 of the 31 events (32%) (8 caused by CsA). Interestingly, 14 of the 23 CNS events (61%) and only 1 of the 8 PNS complications (13%) appeared before day +100 (P = .01). Overall, patients presenting NC showed a trend for higher 1-year nonrelapse mortality (NRM) (37% versus 20%, P = .08). In patients with CNS involvement, 1-year NRM was significantly worse (42% versus 20%, P = .02). CNS NC also had a negative impact on 4-year overall survival (OS; 33% versus 45%, P = .05). In conclusion, our study showed that NC are observed after allo-RIC and have diverse features. NC affecting the CNS have earlier onset and worse outcome than those involving the PNS.

Biol Blood Marrow Transplant 15: 1439-1446 (2009) Crown Copyright © 2009 American Society for Blood and Marrow Transplantation

KEY WORDS: Neurologic complications, Neurology, Stem cell transplantation, Reduced-intensity conditioning, CNS complications, RIC

INTRODUCTION

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) after myeloablative (MA) conditioning is

a consolidated treatment for several hematologic and nonhematologic diseases. Because of its toxicity, this procedure is usually restricted to young (<55 years) and medically fit patients. For those who are ineligible for high-dose therapy, reduced-intensity conditioning regimens (allo-RIC) have been developed. Although nonrelapse mortality (NRM) is lower in patients receiving allo-RIC than in those treated with MA conditioning [1], graft-versus-host disease (GVHD), infections, and organ toxicities (including lung, kidney, gastrointestinal [GI], liver, and neurologic toxicities) limit the success of this new transplantation approach. To improve the outcome, better understanding and prevention of the complications of the procedure are necessary.

Despite neurologic complications (NC) after allo-HSCT representing a major cause of morbidity and

From the ¹Hematology Department and Stem Cell Transplantation Program; ²Neurology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Autonomous University of Barcelona, Spain.

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 1445.

Correspondence and reprint requests: Jose Luis Piñana, Hematology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, St. Antoni Maria I Claret 167, Barcelona 08021, Spain (e-mail: jpinana@santpau.cat).

Received April 28, 2009; accepted July 11, 2009

Crown Copyright © 2009 American Society for Blood and Marrow Transplantation

1083-8791/09/1511-0012\$36.00/0

doi:10.1016/j.bbmt.2009.07.013

mortality, they have not been well characterized to date. Most studies about NC were focused on heterogeneous groups of patients, including autologous and allogeneic transplants, RIC and conventional preparative regimens, and different stem cell sources [2-4]. The characteristics of NC in a specific setting (ie, allo-RIC) are unclear, because very few studies were exclusively conducted in this setting [5,6]. Furthermore, data on long-term NC developing beyond 1 year are limited because of the relatively short follow-up in most studies [2-5,7]. In the first year after transplantation, the incidence of central nervous system (CNS) complications ranged from 8-56% [2-4]. Posttransplant peripheral nervous system (PNS) complications were less frequent, with reported incidences of <5% [5,7].

In the vast majority of studies, metabolic and drug-related toxicities were the most common causes of NC after transplantation. More specifically, toxicity from radiation or drugs (mainly fludarabine [Flu], busulfan [Bu], and calcineurin inhibitors), infections resulting from immunodeficiency and tissue barrier breakthrough, bleeding because of thrombocytopenia, steroid treatment for GVHD, and disease relapse were reported as etiologies and/or risk factors of NC after allo-HSCT [3,5,6,8]. Main neurologic symptoms were seizures and impaired consciousness [2,8-10]. Because of the diversity of causes, clinical features, and nervous systems affected (CNS or PNS) the study of NC remains a challenge.

In view of these limitations, we considered it interesting to investigate the incidence, characteristics, and etiologies of NC after allo-RIC. As an additional novelty, the prolonged follow-up of the study presented here allowed differentiating between early and late CNS and PNS complications.

PATIENTS AND METHODS

Patients

The study included all 191 consecutive patients who underwent allo-RIC in our institution between January 1999 and December 2006. RIC was chosen instead of MA conditioning in view of age (older than 50 years, $n = 121$), severe comorbidities ($n = 11$), or heavy pretreatment ($n = 59$), as described elsewhere [11,12]. Most patients received peripheral blood stem cell (PBSC) grafts (93%). All patients gave written informed consent for inclusion in the transplant studies. The transplant protocol was approved by the national and local ethics committees.

Conditioning Regimen and GVHD Prophylaxis

Conditioning regimens were described elsewhere [13]. Briefly, Flu 150 mg/m² was combined with Bu

8-10 mg/kg (myelogenous malignancies), with melphalan (Mel) 70-140 mg/m² (multiple myeloma [MM] and lymphoid malignancies) or with cyclophosphamide (Cy) 120 mg/kg (solid tumor), or Cy 120 mg/kg combined with low-dose total body irradiation (TBI) 2 Gy (chronic myelogenous leukemia [CML]). Alemtuzumab ($n = 3$) or antithymocytic globulin (ATG) ($n = 20$) was given as a part of the conditioning to patients with Hodgkin lymphoma (HL) transplanted from unrelated donors and to recipients of HLA single mismatch transplants. GVHD prophylaxis consisted of cyclosporine A (CsA) plus either methotrexate (MTX) or mycophenolate mofetil (MMF). CsA was started on day -7, at a dose of 1 mg/kg 2 times a day in most patients, and then adjusted to blood levels (between 200 and 300 µg/mL). MTX was administered on days +1, +3, and +6 (10 mg/m²), with folinic acid rescue being administered within 24 hours after MTX. MMF was instituted on day 0 (at least 10 hours after the infusion of progenitors) at a dose of 15 mg/kg every 8 hours. MMF was continued until day +30. Phenytoin prophylaxis was given to all patients receiving Bu-based conditioning at a starting load dose of 300 mg every 6 hours the day before, and 300 mg/day until the day after of discontinuation of Bu. All patients received antimicrobial prophylaxis with acyclovir, fluconazole, and ciprofloxacin during the neutropenia and until engraftment.

Evaluation and Classification of Neurologic Complications

A multidisciplinary panel of local neurologists and hematologists conceived a classification of NC, according to the criteria most widely used in studies regarding allo-HSCT [2,3,5,14,15] (Table 1). Neurology and hematology specialists retrospectively reviewed all medical records of patients with neurologic symptoms after allo-RIC. All patients had been diagnosed by a consultant neurologist either in the hospitalization unit, the emergency room, or in the outpatient clinic. Because all the transplanted patients are followed for an unlimited time in our unit, even if they are also followed in their original center, late neurologic events were always captured. If any event occurred outside our institution, we always contacted the treating physicians to discuss diagnosis, management, and eventual referral to our unit. Management of patients with neurologic events followed international clinical guidelines [16-18]. When pharmacologic toxicity was suspected, treatment was always discontinued in the case of encephalopathy or neuropathy with severe clinical impairment. Infectious complications were treated according to the current antimicrobial protocol at the unit. To define clinical presentation, reviewers considered the main neurologic symptom leading to diagnosis suspicion. This symptom could develop together with other neurologic or

Table 1. Definition and Diagnosis Classification of Neurologic Complications

Nervous system	Definition	Diagnosis
CNS		
Cerebrovascular	Focal encephalopathy and/or headache and/or impairment of consciousness. Neuroimaging study suggestive of clinical evidence after evaluation by neurologist.	Neuroimaging test (CT scan and/or MRI)
Meningoencephalitis	Fever or CNS focal/nonfocal encephalopathy. CSF compatible with infection. Microbiological evidence or absence of any other possible cause.	Neuroimaging test (CT scan and/or MRI) CSF biochemical and microbiologic analysis
Encephalopathy	CNS manifestation (impairment of consciousness, visual disturbances, seizures). Neuroimaging test compatible. Laboratory findings indicating a toxic or metabolic cause related to the event.	Neuroimaging test (CT scan and/or MRI) Laboratory examination CSF analysis or EEG (depending on clinical presentation)
Idiopathic seizures	Clinical evidence of seizures. Absence of laboratory, Neuroimaging, EEG, or CSF analysis findings suggesting any other cause.	Neuroimaging test (CT scan and/or MRI) Laboratory examination CSF analysis or EEG (depending on clinical presentation)
Other	Neurologic event not included in the other categories	Depending on clinical presentation
PNS		
Mononeuropathy	Sensory-motor disturbances suggesting PNS impairment in a single nerve territory	Electroneurography (according to neurologist criteria)
Polyneuropathy	Sensory-motor disturbances suggesting PNS impairment in several nerves territories	Electroneurography (according to neurologist criteria) CSF analysis (depending on clinical presentation)

CT indicates computed tomography; MRI, magnetic resonance imaging; CNS, central nervous system; PNS, peripheral nervous system; CSF, cerebrospinal fluid; EEG, electroencephalogram.

nonneurologic symptoms. Only major neurologic syndromes were considered. Unspecific multifactorial symptoms such as tremor, mild reversible headache, and corticosteroid myopathy and/or encephalopathy in the context of premortem multiorgan failure were not included in the study. Patients with NC resulting from neurologic relapse of their malignancies were excluded from the analysis, but are explained as an aside.

Statistical Analysis and Endpoints

The primary endpoint was to describe and classify NC in the allo-RIC setting. Secondary objectives were to estimate the incidence of NC and its impact on overall survival (OS) and NRM, and to identify the possible risk factors of such complications. OS and NRM were defined as the time from day 0 of the transplant to death from any cause and death from any cause but relapse, respectively. Patients who died or relapsed before engraftment were not considered evaluable for acute GVHD (aGVHD) analysis. Patients who died or relapsed before day +100 were not considered evaluable for chronic GVHD (cGVHD) analysis. The incidences of NC, aGVHD, cGVHD, NRM, and relapse were calculated using cumulative incidence estimates, taking into account the competing risks [19,20]. To analyze the impact of GVHD in the development of NC, these variables were entered as time-dependent covariates. We considered prior relapse as a competitive event for these items. The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan-Meier curves [21] and compared using the Taron-ware and the Log rank tests. Comparison between baseline characteristics in patients categorized as with NC and without NC was performed

using 2 × 2 tables made by means of chi-squared or Fisher’s exact *t*-tests. Median times were compared by means of the Wilcoxon rank sum test. All tests of significance were 2 sided, with a significance level of *P* ≤ .05. All statistical analyses were performed using SPSS version 15.0 (SPSS, Chicago, IL), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were carried out with NCCS 2004 (Number Cruncher Statistical System, Kaysville, UT).

RESULTS

Patients’ Characteristics

One hundred ninety-one consecutive adult patients who received an allo-RIC at the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau were included in this study. Median follow-up for survivors was 48 months (range: 3-98). Detailed characteristics of patients are summarized in Table 2.

Incidence, Type of Complications, Etiology, and Risk Factors

Twenty-seven (14%) patients developed a total of 31 NC. Twenty-three patients had only 1 event, whereas 4 had 2. Two of the latter 4 patients developed 2 neurologic events affecting CNS and 2 presented 1 CNS and 1 PNS event. Twenty-three (74%) of 31 NC involved the CNS, whereas 8 (26%) involved the PNS. Twenty-five (81%) of 31 events occurred in patients receiving immunosuppressive drugs (11 events with CsA, 6 with CsA and prednisone, 2 with CsA and MMF, 2 with MMF and prednisone, 2 with prednisone alone, 1 with MMF and sirolimus, and 1 with MMF

Table 2. Patients' Characteristics

	All Patients (n = 191)	Patients with NC (n = 27)	Patients without NC (n = 164)	P
Median age, years (range)	51 (18-71)	53 (27-68)	50 (18-71)	.2
Male sex, n (%)	121 (63)	20 (74)	101 (62)	.3
Underlying disease, n (%)				
Myeloid	69 (36)	9 (33)	60 (37)	.8
Lymphoid	113 (59)	18 (67)	95 (58)	.5
Other	9 (5)	0 (0)	9 (6)	.4
Donors, n (%)				
HLA ident.sibling	157 (82)	19 (70)	138 (84)	.1
Alternative donors*	34 (18)	8 (30)	26 (16)	.1
Sex mismatch				
Female to male, n (%)	51 (27)	9 (33)	42 (26)	.5
Prior HSCT, n (%)	74(39)	13 (48)	61 (37)	.3
Conditioning regimen, n (%)				
Fludarabine-melphalan,	119 (62)	20 (74)	99 (60)	.2
Fludarabine-busulfan	61 (32)	6 (22)	55 (34)	.3
Other	11 (6)	1 (4)	10 (6)	1.0
GVHD prophylaxis, n (%)				
CsA + MTX	134 (70)	19 (70)	115 (70)	1.0
CsA + MMF	52 (27)	8 (30)	44 (27)	.8
CsA	3 (2)	0 (0)	3 (2)	1.0
Other	2 (1)	0 (0)	2 (1)	1.0
Graft composition				
CD34 ⁺ × 10 ⁶ /kg, mean (range)	6.3 (1.6-15.6)	6.7 (3.1-15.5)	6.2 (1.6-15.6)	.5
CMV serology				
D+/Re+, n (%)	123 (64)	17 (63)	106 (65)	1.0
Stem cell source, n (%)				
Peripheral blood	178 (93)	27 (100)	151 (92)	.2
Bone marrow	13 (7)	0 (0)	13 (8)	.2

Ident indicates identical; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; CsA, cyclosporine A; MTX, methotrexate; MMF, mycophenolate mofetil; D, donor; Re, receptor; GVHD, graft-versus-host disease; NC, neurologic complications.

*Alternative donors are referring to unrelated adult donors and HLA mismatched related donors.

alone). The cumulative incidence of NC at 4 years was 16% (95% confidence interval [CI] 11-23). Cumulative incidences of CNS and PNS complications were 11% (95% CI 7-18) and 4% (95% CI 2-10), respectively.

We did not identify any risk factors for the development of NC among type of conditioning, type of donor, GVHD prophylaxis regimen, previous autologous HSCT, underlying disease or patients' comorbidities (Tables 2 and 4). In the same way, we did not observe higher incidence of NC in patients with prior neurovascular events (Table 4). Two patients with prior neurovascular events developed NC, both involving the CNS. One of them developed seizures attributed to severe hypophosphatemia and died 58 days later. The other patient developed PML and died 87 days later.

CNS Complications

According to the classification used (Table 1), toxic-metabolic encephalopathy was the main type of CNS complication in this series (n = 11, 48%) followed by infectious meningoencephalitis (n = 5, 22%) (Table 3). Drug-related toxicity was directly responsible for 8 (35%) CNS events. One of these was related to Bu and 7 to CsA. Despite the known neurotoxicity of Flu, this drug was not identified as the primary cause of any of the NC. Among the other 3 cases of toxic-metabolic encephalopathy, 1 was caused by hypophosphatemia and 1 by hyponatremia. The third case consisted of seizures

during infusion of rituximab for posttransplant lymphoproliferative disorder.

Among the cases of infectious meningoencephalitis, 1 was due to CNS aspergillosis and 3 were caused by viral infections: 2 herpes simplex (HSV) and 1 adenovirus. There was an additional case of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) diagnosed by clinical features and magnetic resonance imaging (MRI) findings. In this case, the JC virus was not isolated.

Regarding cerebrovascular events, 3 were ischemic, whereas 1 was hemorrhagic in a patient with arterial hypertension.

PNS Complications

Regarding PNS, 5 patients developed a mononeuropathy and 3 a polyneuropathy (including 1 Guillain-Barré syndrome). Among mononeuropathies 1 was related to CsA, 1 to Foscarnet, and 1 to Human Herpes Virus (HHV) type 6. A well-established cause could not be identified for the remaining mononeuropathies or for the polyneuropathies.

Clinical Presentation and Time of Onset

The most frequent presentation (n = 8, 26%) of NC was a focal syndrome (such as hemiparesis and dysarthria). Other features were seizures (n = 6) and peripheral sensory motor disturbances (n = 6), each in 19% of events. Less frequent clinical pictures were diffuse high cerebral function disturbance (n = 4,

Table 3. Type, Cause, and Time of Appearance of Neurologic Complications (According to Table 1)

Nervous System	n (%)	Etiology (n)	Time of Appearance Median (Range)
CNS	23 (100)		
Cerebrovascular	4 (17)	Ischemic (3), Hemorrhagic (1)	242 (154-434)
Meningoencephalitis	5 (22)	Viral (4), Fungal (1)	217 (32-1685)
Encephalopathy	11 (48)	Toxic (8), Metabolic (3)	25 (0-67)
Idiopathic seizures	2 (9)	Unknown (2)	76 (58-94)
Other	1 (4)	Unknown (1)	691 (-)
PNS	8 (100)		
Mononeuropathy	5 (63)	Toxic (2), Unknown (2), Infectious (1)	223 (59-369)
Polyneuropathy	3 (37)	Unknown (3)	274 (152-1089)

CNS indicates central nervous system; PNS, peripheral nervous system.

13%) (such as behavioral abnormalities and hallucinations), impairment of consciousness (n = 3, 10%), and headache (n = 2, 6%).

Median time of onset for NC was 115 days after transplantation (range: 0-1685). The median time of appearance for CNS complications was 60 days (range: 0-1685) and 233 days (range: 59-1089) for PNS complications. The presentation of CNS NC was more often observed in the first 100 days after allo-RIC; 14 of 23 (61%) of them were observed within this period. In contrast, PNS NC were more delayed, with only 1 of 8 (13%) being observed during this period (P = 0.01). Of note, 4 (13%) of 31 NC were considered late events (after 1 year). Of them, 2 affected CNS (median 1188 days, range: 691-1685) and 2 PNS (median: 725 days, range: 369-1081).

Outcome

GVHD

One hundred eighty-seven (98%) patients were evaluable for aGVHD assessment. Of these, 101 (54%) developed aGVHD, with a cumulative incidence of grade II-IV aGVHD of 28% (95% CI 22-35). There

were no differences in the development of aGVHD between patients with and without NC (Table 4).

One hundred forty-two (74%) patients were evaluable for cGVHD. One hundred (70%) of these patients developed cGVHD with a 4-year cumulative incidence of 72% (95% CI 53-85). There were no statistically significant differences between those patient who developed NC and those who did not (Table 4).

NRM

Fifty-three (28%) patients died from NRM after a median follow-up for the whole group of 19 months (range: 0.3-99). Median time to death was 118 days (range: 8-1730). The cumulative incidence of NRM for the whole group was 29% (95% CI 23-38) at 19 months. The most common causes of NRM were GVHD and infections (25 patients died from GVHD with infection, 17 from GVHD without infection, and 8 from infection without GVHD). Among the 27 patients with NC, 15 (56%) (14 CNS and 1 PNS events) died at a median of 79 days (range: 0-533). Six of them (40%) died within the first 30 days after developing CNS NC (3 toxic-metabolic encephalopathies, 2 meningoencephalitis, and 1 vascular

Table 4. Risk Factors Evaluation

	Patients with NC Complications (n = 27)	Patients without NC Complications (n = 164)	
Comorbidities			
Creatinine (µmol/L)	98 (54-150)	91 (55-231)	.1
Smoking	11 (41)	77 (47)	.5
AT	4 (15)	37 (23)	.7
Cardiac failure	3 (11)	26 (16)	.8
Arrhythmia	2 (7)	4 (2)	.2
Alcoholism	0 (0)	19 (12)	.08
Psychiatric disturbance	0 (0)	14 (9)	.2
Diabetes Mellitus	3 (11)	19 (12)	1
Neurovascular disease	2 (7)	6 (4)	.3
Seizures	1 (4)	3 (2)	.5
TBI-based regimen	1 (4)	3 (2)	.5
CNS radiation (for any reason)	1 (4)	11 (7)	1
In vivo T cell depletion	5 (19)	18 (11)	.2
Cum. Inc aGVHD I-IV	62% (CI 95%45-83)	56% (CI 95% 46-61)	.4
Cum. Inc aGVHD II-IV	28% (CI95% 22-35)	31% (CI95% 17-55)	.7
Cum.Inc cGVHD	65% (CI95% 47-90)	79% (CI 95% 72-88)	.5
Cum Inc Ext cGVHD	19% (CI95% 8-46)	27% (CI95% 20-36)	.3
Cum. Inc Relapse at 1 year	18% (CI95% 8-41)	28% (CI95% 22-36)	.3

NC indicates neurologic complications; Cum. Inc, cumulative incidence; CI, confidence interval; AT, arterial hypertension; TBI, total body irradiation; GVHD, graft-versus-host disease: aGVHD, acute graft-versus-host disease; cGVHD, chronic graft-versus-host disease; CR, conditioning regimen; Ext, extended.

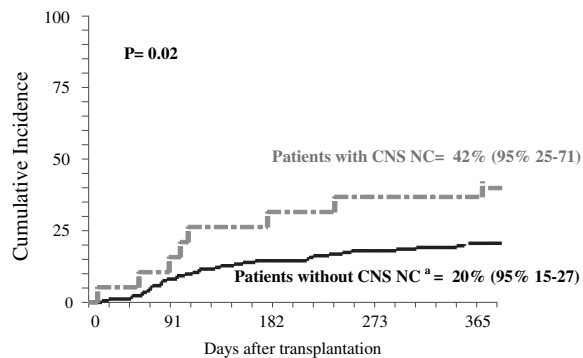


Figure 1. One-year NRM according to the development of central nervous system complications. ^a Patients without CNS NC include patients with PNS complications and patients without any NC.

hemorrhage). Twelve (44%) of 27 patients remained alive, 6 with neurologic sequelae. Among them, 2 patients remained with hemiparesis (vascular events), 2 with paresthesia and neuropathic pain (one with mononeuropathy and 1 with polyneuropathy), 1 with mild dysphagia (mononeuropathy), and 1 with a progressive dementia (included in the *others* category).

The cumulative incidence of NRM at 1 year for patients who developed NC was 37% (95% CI 22-63) compared to 20% (95% CI 15-27) for those who did not ($P = .08$). This difference was even higher when we compared those with CNS involvement, 42% (95% CI 25-71) with those without (PNS complications and no NC) 20% (95% CI 15-17) ($P = .02$) (Figure 1).

Relapse and OS

The cumulative incidence of 1-year relapse was 27% (CI 95% 21-34) for the whole group. There were no differences in the relapse rate between the 2 groups (Table 4). Of note, all baseline disease CNS relapses belonged to solid organ malignancies ($n = 4$).

OS at 4 years was 43%. It was 42% versus 43% for patient with and without NC, respectively ($P = .4$) (Figure 2). However, OS was lower in patients who developed CNS complications than in those who did not (33% versus 45%, $P = .05$) (Figure 3).

DISCUSSION

The cumulative incidence of 16% in our series indicates that NC remain an important clinical issue after allo-HSCT, even when RIC is used. The impact of conditioning regimen in the development of NC is controversial. One study in adults [3] conducted mainly in patients receiving MA allo-HSCT reported higher 1-year incidences of NC (cumulative incidence of 23%) than in our study, and identified the use of MA conditioning as a risk factor for CNS complications. However, other studies in adults [10] and pediatric patients [2] did not confirm the impact of MA regimens in the development of NC and reported similar

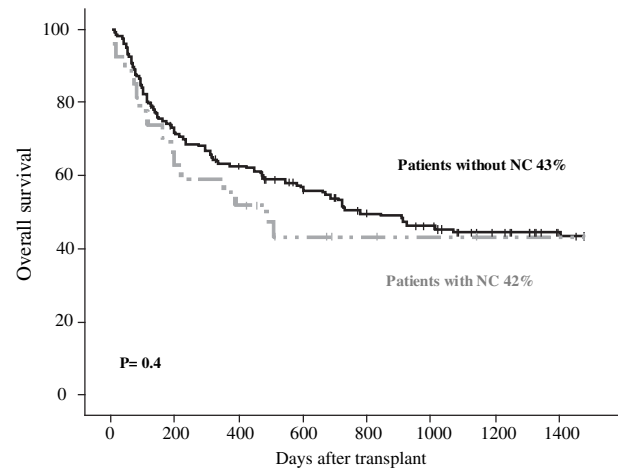


Figure 2. OS according to the development of neurological complications.

incidences to those in the present study. Obviously, because all of our patients received an allo-RIC, we could not explore the impact of conditioning regimen in the development of NC after transplant, but considering these controversial results we think that it needs to be further explored in future studies including patients receiving MA and RIC regimens.

The incidences of CNS and PNS complications in our study were 11% and 4%, respectively. These values are slightly higher than in other studies focused on NC in adult Allo-RIC patients [5,6]. Kishi et al. [6] reported a cumulative incidence for CNS complications at day +100 after allo-RIC of 7.8%, but they did not consider PNS complications or NC occurring beyond day +100 after transplantation. Avivi et al. [5] reported an NC (CNS and PNS) incidence of 8.9% during the first year after transplant, in a series of 85 patients who received alemtuzumab-based Allo-RIC. Despite the lack of major differences between these studies and our own, the slightly higher incidence of NC in our patients could be explained by the fact that we included not only CNS, but also PNS involvement, and because the longer follow-up of our study allowed us to identify late

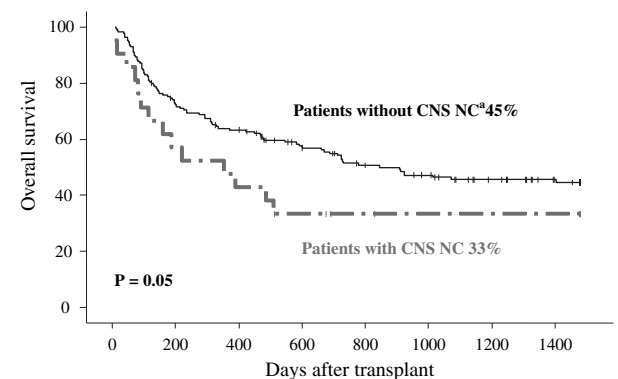


Figure 3. OS in patients with/without CNS involvement. ^a Patients without CNS NC include patients with PNS complications and patients without any NC.

complications in 4 (15%) of the 27 patients. Another difference that could influence the trend toward a higher NC incidence in our study is that nearly all (>90%) of our allo-RIC patients received Flu and/or CsA, both identified as risk factors for NC [22]. This circumstance did not allow us to analyze the possible impact of the concomitant use of both drugs on the occurrence of NC.

In line with prior reports [8,23], the most frequent causes for NC in our series were toxic-metabolic disorders (13 of 31 NC, 42%), infections (19%), and vascular events (13%). CsA was identified as the primary cause (26% in our study) of NC, as was found by other authors [2]. CsA has a marked neurologic toxicity on the CNS and the PNS. Clinical manifestations frequently range from postural tremor or palmar paresthesias to generalized tonic-clonic seizures or posterior reversible encephalopathy syndrome. The mechanisms of CsA neurotoxicity are diverse, and most of them remain under investigation. One *in vitro* model study has suggested that CsA may induce neuronal apoptosis and selective oligodendrocyte death [24]. Other proposed mechanisms are the induction of ischemic disturbances in the brain by endothelial damage (such as in the thrombotic microangiopathy) and the interaction with adrenergic receptors on cranial vessels [25]. The development of CsA-induced hypomagnesemia may also contribute to its neurotoxic effects [26].

We did not identify any risk factors for the development of NC (Table 4). This could be from the limited statistical power of the study and the limited number of patients. Type of transplant, disease status, MA conditioning, acute myelogenous malignancy, GVHD greater than grade II, use of CsA, use of alemtuzumab, female sex, the use of umbilical cord blood (UCB) as stem cell source and TBI as part of conditioning regimen have been suggested as risk factors for NC after allo-HSCT by several groups [3,14]. Some of these factors, such as the use of CsA, Flu, or Bu, have well-established biologic correspondence and have been recognized as common chemotherapeutic agents that might cause CNS toxicity [27]. The use of radiation on the CNS (either in the conditioning regimen for the allo-RIC [$n = 4$] or its previous use in those patients who had received an autologous transplant [$n = 7$], or as a treatment for baseline disease before transplant [$n = 1$]) did not have any influence on the development of NC in our series (Table 4). Avivi et al. [5] observed several PNS complications in patients treated with alemtuzumab, and suggested that this drug could be a possible risk factor in the development of these complications. The proposed mechanism would be that lymphopenia could facilitate viral infections causing radiculoneuropathy and myelitis. However, we did not find an association between TCD cell depletion (TCD; Alemtuzumab or ATG) and the development of PNS

complications in our series (PNS complications appeared in 4.5% of transplants with TCD and in 3% of those without TCD, $P = .5$). Further studies are therefore needed to elucidate the role of TCD on PNS toxicity in the allo-RIC setting.

Fifteen of the 31 NC (48%) appeared before day +100. A group from Canada also identified the first 100 days posttransplant as a high-risk period for neurologic events, with 69% of the CNS complications of their series occurring within this period [3]. Of note, we also identified late NC, such as dementia (included in the "others" categories in our classification), mononeuropathies, and polyneuropathies. Some of these events appeared more than 3 years after transplantation. These and another group's findings [14] enhance the importance of longer observation periods in clinical studies regarding NC after HSCT.

Interestingly, we found that neurologic events involving CNS appeared earlier (median of 60 days, 0-1685) than those affecting PNS (median of 233 days, range: 59-1089). Because infections, hemorrhages, and acute pharmacologic toxicity (the main causes for CNS complications) appear more frequently within the first months after transplantation, the finding is not surprising. In contrast, PNS complications are usually related to long-term pharmacologic toxicity or cGVHD. To the best of our knowledge, no previous data to the reported here gave insights on the median time to PNS complications in this setting.

As reported in a previous study, NC had a negative impact on outcome [3]. In this series, a trend to higher 1-year NRM was observed in patients with NC. Of note, patients with CNS involvement had a significantly higher 1-year NRM (42% versus 20%, $P = .02$), reflected in a lower OS (33% versus 45%, $P = .05$). These findings enhance the suggestion that NC and especially CNS complications constitute an important cause of mortality after allo-HSCT. It is of interest that a quarter of the patients in our series survived the NC, but had clinically significant impairment. In line with other studies, these results emphasize the negative impact that NC have, not only on mortality, but also on morbidity and quality of life of the patients [3,7,15].

In conclusion, the study reported here confirms that NC have diverse causes and clinical features. Complications involving the CNS had earlier onset and more severity than PNS complications.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial disclosure: J.L. Piñana is supported by grant from the Instituto de Salud Carlos III (CM06/00139, Ministerio de Sanidad, Spain). This study was supported in part by grant RD06/0020/0101 from the Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Sanidad,

Spain, and from the Fundació d'Investigació Sant Pau (Ferrer-Salat Award). We thank Carolyn Newey for her contribution in the revision of the manuscript.

REFERENCES

- Valcárcel D, Martino R, Sureda A, et al. Conventional versus reduced-intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with hematological malignancies. *Eur J Haematol*. 2005;74:144-151.
- Uckan D, Cetin M, Yigitkanli I, et al. Life-threatening neurological complications after bone marrow transplantation in children. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35:71-76.
- Siegal D, Keller A, Xu W, et al. Central nervous system complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, manifestations, and clinical significance. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13:1369-1379.
- Saiz A, Graus F. Neurological complications of hematopoietic cell transplantation. *Semin Neurol*. 2004;24:427-434.
- Avivi I, Chakrabarti S, Kottaridis P, et al. Neurological complications following alemtuzumab-based reduced-intensity allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2004;34:137-142.
- Kishi Y, Miyakoshi S, Kami M, et al. Early central nervous system complications after reduced-intensity stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10:561-568.
- Sostak P, Padovan CS, Yousry TA, et al. A prospective evaluation of neurological complications after allogeneic bone marrow transplantation. *Neurology*. 2003;60:842-848.
- Battle M, Oriol A, Ribera JM, et al. Neurologic complications following hematopoietic stem cell transplantation. Study of 14 patients. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:697-699.
- Schmidt K, Schulz AS, Debatin KM, Friedrich W, Classen CF. CNS complications in children receiving chemotherapy or hematopoietic stem cell transplantation: retrospective analysis and clinical study of survivors. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;50:331-336.
- Narimatsu H, Miyamura K, Iida H, et al. Early central nervous complications after umbilical cord blood transplantation for adults. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:92-100.
- Valcárcel D, Martino R, Caballero D, et al. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol*. 2008;26:577-584.
- Martino R, Caballero MD, Canals C, et al. ALLOPBSCT Subcommittee of the Spanish Group for Haematopoietic Transplantation (GETH); Group GEL-TAMO. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning: results of a prospective multicentre study. *Br J Haematol*. 2001;115:653-659.
- Pérez-Simón JA, Díez-Campelo M, Martino R, et al. Influence of the intensity of the conditioning regimen on the characteristics of acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic transplantation. *Br J Haematol*. 2005;130:394-403.
- Weber C, Schaper J, Tibussek D, et al. Diagnostic and therapeutic implications of neurological complications following paediatric haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41:253-259.
- Antonini G, Ceschin V, Morino S, et al. Early neurologic complications following allogeneic bone marrow transplant for leukemia: a prospective study. *Neurology*. 1998;50:1441-1445.
- Adams HP Jr., del Zoppo G, Alberts MJ, et al. American Heart Association; American Stroke Association Stroke Council; Clinical Cardiology Council; Cardiovascular Radiology and Intervention Council; Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Stroke*. 2007;38:1655-1711.
- Broderick J, Connolly S, Feldmann E, et al. American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; American Heart Association/American Stroke Association High Blood Pressure Research Council; Quality of Care and Outcomes in Research Interdisciplinary Working Group Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage in adults: 2007 update: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, High Blood Pressure Research Council, and the Quality of Care and Outcomes in Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation*. 2007;116:e391-e413.
- Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, et al. ILAE treatment guidelines: evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia*. 2006;47:1094-1120.
- Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2001;28:909-915.
- Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling. *Bone Marrow Transplant*. 2001;28:1001-1111.
- Kaplan EL, Meier P. Non parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53:457-481.
- Bleggi-Torres LF, de Medeiros BC, Werner B, et al. Neuro-pathological findings after bone marrow transplantation: an autopsy study of 180 cases. *Bone Marrow Transplant*. 2000;25:301-307.
- Mathew RM, Rosenfeld MR. Neurologic complications of bone marrow and stem-cell transplantation in patients with cancer. *Curr Treat Options Neurol*. 2007;9:308-314.
- McDonald JW, Goldberg MP, Gwag BJ, Chi SI, Choi DW. Cyclosporine induces neuronal apoptosis and selective oligodendrocyte death in cortical cultures. *Ann Neurol*. 1996;40:750-758.
- Gijtenbeek JM, van den Bent MJ, Vecht CJ. Cyclosporine neurotoxicity: a review. *J Neurol*. 1999;246:339-346.
- Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int*. 2000;13:313-326.
- Sioka C, Kyritsis AP. Central and peripheral nervous system toxicity of common chemotherapeutic agents. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2009;63:761-767.

Artículo anexo 1

**Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning
allogeneic stem cell transplantation: single-centre experience.**

Piñana JL, Martino R, Barba P, Margall N, Roig MC, Valcárcel D, Sierra J, Rabella N.

Bone Marrow Transplantation. 2010; 45 (3): 534-42.

ORIGINAL ARTICLE

Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: single-centre experience

JL Piñana¹, R Martino¹, P Barba¹, N Margall², MC Roig², D Valcárcel¹, J Sierra¹ and N Rabella²¹Division of Clinical Hematology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain and²Department of Microbiology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

The aim of this study was to analyse the incidence and risk factors for cytomegalovirus infection (CMV-I) and disease (CMV-D) after a reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT-RIC). We included 186 consecutive alloHSCT-RIC adult patients at risk for CMV reactivation (patient and/or donor CMV seropositivity). Conditioning regimen was based on fludarabine plus an alkylating agent. For guiding pre-emptive anti-CMV therapy, Pp65 Antigenemia (pp65Ag) ($n = 116$) or quantitative polymerase chain reaction (quantPCR) ($n = 70$) were used. The 2-year incidence of CMV-I and/or CMV-D was 36% (11% for CMV-D). Of note, 12/14 (86%) episodes of CMV-D in the pp65Ag group had lung involvement compared with only 3/15 (20%) in the quantPCR group ($P = 0.01$). Importantly, the number of patients who developed CMV pneumonia with prior negative screening tests was unusually high (67% overall). Multivariate analysis of risk factors for CMV-D identified two risk factors: (i) steroid therapy for moderate-to-severe graft-vs-host disease (GVHD) (hazard ratio 4.7, $P = 0.02$); and (ii) alternative donors (non-HLA-identical siblings) [hazard ratio 2.7, $P = 0.002$]. Our findings suggest that CMV is still a major concern in alloHSCT-RIC. Variables associated with poor anti-CMV T-cell recovery (that is, GVHD and donor type) are helpful in identifying patients at higher risk for CMV-D in the alloHSCT-RIC setting.

Bone Marrow Transplantation (2010) 45, 534–542; doi:10.1038/bmt.2009.180; published online 10 August 2009

Keywords: CMV infection; CMV disease; reduced intensity conditioning HSCT; allo-RIC; CMV quantitative PCR; antigenemia pp65

Introduction

Reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT-RIC) is now a consolidated alternative for patients with an indication for alloHSCT but have comorbidities, which discourage a high-dose myeloablative conditioning regimen. RIC regimens may reduce the early post transplant infectious morbidity,^{1,2} because of shorter periods of leukopenia and less organ damage. Some authors have also described a reduction of incidence of cytomegalovirus infection (CMV-I) and disease (CMV-D) during the first months after transplant, but with later increases because of graft-vs-host disease (GVHD) and its treatment.³ However, RIC regimens that include *in vivo* T-cell depletion with antithymocyte globulin (ATG), and, more importantly, with alemtuzumab, may lead to high incidence of CMV-I after HSCT, but CMV-D may be prevented with close monitoring and pre-emptive anti-CMV therapy.^{4–7} On the other hand, non-T-cell depleted RIC regimens may lead to a high incidence of extensive chronic GVHD and, thus, potentially to a high risk of late (after 3–4 months post-HSCT) CMV-I and CMV-D. Thus, CMV-I and CMV-D may still be a major cause of morbidity and mortality in alloHSCT-RIC setting.

With the aim of decreasing CMV-related morbidity and mortality, several strategies have been developed, although close screening for CMV-I and pre-emptive treatment (before the onset of CMV-D) with ganciclovir, foscarnet and other drugs is the main accepted strategy.^{8–10} Pre-emptive therapy relies on the availability of a sensitive, rapid and specific diagnostic test of CMV-I. Among the available screening techniques to detect CMV replication (infection), the most commonly used are the pp65 antigenemia (pp65Ag) assay, and several qualitative and quantitative polymerase chain reaction (PCR) analyses for CMV DNA or CMV mRNA.^{9,11–15}

At our institution, since 1993 all AlloHSCT recipients at risk for developing CMV-I were monitored with the detection of pp65Ag in peripheral blood polymorphonuclear granulocytes.¹⁶ The progressive switch to quantitative PCR (quantPCR) for the diagnosis and follow-up of numerous viral pathogens led to the implementation of a validated quantPCR for monitoring CMV in immunocompromised hosts, and, thus, in late 2003 we switched to a

Correspondence: Dr JL Piñana, Division of Clinical Hematology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, St Antoni M^a Claret 167, Barcelona 08021, Spain.

E-mail: jpinana@santpau.cat

Received 26 September 2008; revised 6 April 2009; accepted 3 May 2009; published online 10 August 2009

PCR-based pre-emptive therapy. The growing numbers of RIC allografts allowed us to analyse the characteristics of CMV infection and disease as well as the risk factors for CMV-D in a large homogeneous (with respect to the type of conditioning regimen and supportive care) single-centre patient cohort.

Patients and methods

Patients

One hundred and ninety-five consecutive adults received an alloHSCT with a RIC regimen based on fludarabine plus intermediate-dose busulfan or melphalan in our Division between 1999 and 2006. Nine patients (4%) were considered non-evaluable for this study because the patient and donor were CMV seronegative. Detailed characteristics of the 186 evaluable patients are shown in Table 1. All patients were included in a series of consecutive alloHSCT-RIC trials designed for patients not eligible for a conventional high-dose myeloablative conditioning, as reported elsewhere in detail.^{17–19} All patients gave written informed consent for inclusion in each study, and all studies were approved by our National and local Ethics Committees.

Conditioning regimen and GVHD prophylaxis

In brief, two RIC regimens were used. Both included fludarabine plus either oral busulfan 8–10 mg/kg or IV melphalan 70–140 mg/m² (for myeloid and lymphoid malignancies, respectively).²⁰ There were 35 alternative donor (donors other than HLA-identical siblings) transplants, which included 32 unrelated donor transplants [11 of them were HLA mismatched unrelated donors] and 3 HLA mismatched related donors. Alemtuzumab or ATG were given in recipients of HLA-mismatched related donors or mismatched unrelated donors. One patient with an HLA-mismatched related donor did not receive ATG or alemtuzumab because the MM was in HLA DQB1, whereas the other two had differences in HLA class A or DRB1. Patients with Hodgkin disease with matched unrelated donors (*n* = 7) received ATG, whereas two patients with chronic lymphocytic leukemia and one with follicular lymphoma with matched unrelated donors received alemtuzumab as part of conditioning. GVHD prophylaxis was described elsewhere.^{19,21} From 1999 until late 2003 it consisted of cyclosporine A (0.5 mg/kg twice daily) plus short-course methotrexate (10 mg/m² on days +1, +3 and +6). Since late 2003, we changed to mycophenolate mophetil (MMF) to reduce methotrexate toxicity. MMF was started on day 0 (at least 10 h after the infusion of progenitors) at a dose of 1 g three times daily (15 mg/kg/8 h). MMF was continued until day +30 and then tapered if no complete donor T-cell chimerism was achieved or no GVHD was observed. All patients received antimicrobial prophylaxis with acyclovir, fluconazol and norfloxacin or ciprofloxacin during neutropenia and until engraftment.

CMV screening period

All patients at risk were routinely monitored at least twice per week while admitted to the hospital, and thereafter once

Table 1 Patient characteristics and transplant outcomes

Variables	Patient (n = 186)
Median age, years (range)	55 (18–72)
Gender male, n (%)	111 (60)
Female donor to male recipient	49 (26)
Underlying disease, n	
1. AL/MDS/MPS	42/14/15
2. CLL/NHL/MM	16/36/31
3. HD/solid tumours and others	25/7
Advanced disease status at HSCT, n (%) ^a	143 (77)
Recipient/donor CMV serology, n (%)	
R + /D–	42 (23)
R–/D+	16 (8)
R + /D+	128 (69)
Donor type, n (%)	
HLA identical sibling	151 (81)
Alternative (URD or MM related)	35 (19)
CMV screening test	
Pp65 Antigenemia	116 (62)
QuantPCR	70 (38)
Conditioning regimen, n (%)	
Fludarabine-Melphalan	115 (2)
Fludarabine-Busulfan	71 (38)
Peripheral blood stem cells, n (%)	175 (94)
Alemtuzumab or ATG-based conditioning, n (%)	23 (12)
GVHD prophylaxis, n (%)	
CsA-MTX	132 (71)
CsA-MMF	54 (29)
Transplant outcome	
Cum. Inc. Acute GVHD, % (95% CI)	
• Grades I–IV	53 (46–60)
• Grades II–IV	28 (22–35)
Cum. Inc. chronic GVHD at 1 year, % (95% CI)	67 (54–79)
NRM at 1 year, % (95% CI)	26 (20–33)
Cum. Inc. of relapse at 1 year, % (95% CI)	22 (17–29)
Median follow-up, months (range)	17 (0.25–98)
Overall survival at 1 year	64%

Abbreviations: AL = acute leukemia; MDS = myelodysplastic syndrome; MPS = myeloproliferative syndrome; NHL = non-Hodgkin's lymphoma; HD = Hodgkin's disease; MM = multiple myeloma; URD = unrelated donors; MM related = mismatch related donors; ATG = anti-thymocyte globuline; MMF = mycophenolate mophetil; CI = confidence interval; Cum. Inc. = cumulate incidence; NRM = non-relapse mortality; quantPCR = quantitative polymerase chain reaction.

^aAdvanced disease status was considered in patients with acute myeloid leukemia or acute lymphoblastic leukemia in ≥2nd complete remission (CR), myeloproliferative disease in ≥2nd CR and in accelerate or blast phase, Hodgkin disease in ≥3rd remission or with partial remission (PR), follicular lymphoma ≥3rd CR, large B-cell lymphoma or multiple myeloma >2nd CR or PR and solid tumours. Patients with PR or persistent disease at transplantation (except for MM) were also considered as advanced disease status.

a week during the first 100 days and monthly until 1 month after the withdrawal of immunosuppression. Patients who developed acute or chronic GVHD were monitored at each outpatient visit (once or twice a week until 1 month after the discontinuation of immunosuppression).

Technical considerations

Pp65 Antigenemia test. Since 1999 until late 2003, 116 patients were monitored by the pp65Ag. After engraftment (WBC $1 \times 10^9/l$), weekly heparinized blood samples were tested in all patients for CMV pp65-antigenemia and viremia. CMV antigenemia testing was performed in duplicate as described earlier.²² Briefly, an indirect immunofluorescence technique was used to detect the presence of any pp65-positive cells. The polymorphonuclear leukocyte fraction was separated from 10 ml of heparinized blood by sedimentation in a 6% dextran solution. A measure of 2×10^5 leukocytes were cytocentrifuged onto glass slides, fixed with 5% formaldehyde for 10 min and air-dried. For staining, a pool of monoclonal antibodies to the CMV pp65–69 polypeptide was used (95/12 Monofluo Kit CMV; Sanofi Diagnostics Pasteur, Barcelona, Spain). After 30 min of incubation, the slides were washed twice with PBS and then stained with fluorescein-conjugated mouse anti-IgG sheep antibodies (Monofluo Kit CMV). Slides were washed again with PBS and mounted. Reading was done under a fluorescence microscope to search for fluorescence-positive cells, and the presence of a single positive cell in both slides was considered a positive result. The number of CMV-positive cells was expressed per 2×10^5 leukocytes studied in a semiquantitative manner.

CMV quantPCR test. Since late 2003, 70 patients were monitored with a quantPCR technique in plasma samples. After HSC infusion (day 0 from transplant), twice weekly heparinized whole blood samples were collected and tested in all patients by a CMV quantPCR test. Between December 2003 and September 2005, the extraction of CMV DNA was made by QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen. The PCR was performed by the RealArt CMV LC PCR Kit, Artus, in the LightCycler 2.0 Instrument (Roche Diagnostics). This kit contains reagents and enzymes for the specific amplification of a 105 bp region of the CMV genome, and for the direct detection of the specific amplicon. In addition, the kit contains a second heterologous amplification system to identify possible PCR inhibition. External positive controls (Quantitation Standards) allow the determination of the CMV load. The detection limit of this test in combination with the LC 2.0 instrument is consistently 65 copies/ml. Between October 2005 and December 2007, the extraction of CMV DNA was made by affigene DNA extraction kit, Sangtec Molecular Diagnostics AB, Sweden. The PCR was performed by the affigene CMV trender, Sangtec Molecular Diagnostics AB. This kit contains reagents and enzymes for the specific amplification of a region of the CMV genome, and for the direct detection of the specific amplicon. In addition, the kit contains a second heterologous amplification system to identify possible PCR inhibition. Two calibrators, calibrated towards well-characterised and quantitated standard material, enable the quantification of CMV. The detection limit of this test in combination with the M \times 3000P instrument is consistently 180 copies/ml.

Definitions. The level of CMV-I that was established for initiating pre-emptive anti-CMV therapy was defined

during the antigenemia period as the presence of a single pp65 antigen-positive cell per 10^5 leukocytes, whereas within the quantPCR period it was defined as >1000 DNA copies/ml in 1 serum sample or 2 consecutive samples with >500 DNA copies/ml. A recurrent episode of infection was defined as new detection of CMV-I in a patient who had cleared a prior episode for at least 8 weeks. CMV-D was divided into pneumonia, gastrointestinal (GI) disease and retinitis. CMV pneumonia is defined by the presence of signs and/or symptoms of pulmonary disease combined with the detection of CMV in bronchoalveolar lavage fluid or lung tissue samples. Detection of CMV was performed by virus isolation, histopathologic testing, immunohistochemical analysis or *in situ* hybridisation. CMV GI disease is defined by identification of a combination of clinical symptoms from the upper or lower GI tract, findings of macroscopic mucosal lesions on endoscopy, and demonstration of CMV mucosal infection (by culture, histopathologic testing, immunohistochemical analysis or *in situ* hybridisation) in a GI tract biopsy specimen. Retinitis was diagnosed by typical lesions observed by an experienced ophthalmologist, without the need for isolation of CMV in the eye fluid. More detailed definitions of CMV-D have been published elsewhere.²³

Pre-emptive therapy

Intravenous ganciclovir or foscarnet was started only if CMV antigenemia and/or viremia were detected or when CMV DNA was detected by quantPCR as describe above, at a dose of 5 and 60 mg/kg i.v., respectively, every 12 h for 14 days followed by 5 and 60 mg/kg daily Monday to Friday for 14 days, respectively. Patients with recurrent infection received a second course. Since mid-2003, all outpatients received oral valganciclovir as pre-emptive therapy at a usual dose of 900 mg/twice daily. Hospitalised patients received ganciclovir, reserving foscarnet to patients who developed neutropenia during CMV-I or CMV-D. Patients were considered to have cleared the CMV infection when pp65Ag, viremia were negative or the CMV viral load was undetectable (0 copies/ml) after two consecutive quantPCR tests.

Recurrent episodes of CMV infection were re-treated according to the discretion of the treating physician. For treatment of CMV-D, in addition to anti-CMV drugs, patients with CMV pneumonia also received high-dose intravenous polyvalent immunoglobulins at a dose of 500 mg/kg every other day for 14 days.

Statistical analysis

The main endpoints of the study were to estimate the incidence of CMV-I and CMV-D, and, secondarily, to analyse risk factors for CMV-D in a relatively homogeneous RIC setting and during a post transplant follow-up of at least 1 year in all cases. Overall transplant outcomes were also calculated. The incidences of CMV-I, CMV-D, acute and chronic GVHD, NRM and relapse were calculated using cumulative incidence (Cum Inc) estimates, taking into account the competing risk structure.^{24,25} The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan–Meier curves.²⁶ Cox regression

hazard models were used for univariate and multivariate analyses of risk factors for CMV-D, analysing the impact of post transplant events as time-dependent covariates. Variables that showed an impact on CMV-D in univariate testing but were associated (for example, showed collinearity) with the type of monitoring used (pp65Ag or quantPCR) were not included in the multivariate Cox models, as this could lead to finding ‘statistically significant’ variables because of chance alone. Tests of significance were two-sided, with a significance level of $P \leq 0.05$. All statistical analyses were performed using SPSS version 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were carried out with NCSS 2004 (Number Cruncher Statistical System, Kaysville, UT, USA).

Results

Patient characteristic

Detailed characteristics of patients are shown in Table 1. There were 63% male, and the median age was 55 years (range, 18–72) with a median follow-up of 17 months (range, 0.25–98). Most patients were transplanted for acute leukemia, and 151/186 received an alloHSCT-RIC from an HLA-identical sibling donor. Conditioning regimen was fludarabine-melphalan in 120 (62%) patients. *In vivo* T-cell

depleting agents such as alemtuzumab ($n=4$) and anti-thymoglogulin (ATG, $n=19$) were given in 23 cases (12%) cases. Forty-nine patients developed acute GVHD grade I and 53 grades II–IV (18 grades III–IV). Chronic GVHD was observed in 98 (72%) of 137 evaluable patients.

CMV infection

The details of the episodes of CMV-I and CMV-D are shown in Table 2. Sixty-nine of 186 patients (37%) monitored developed CMV-I and/or CMV-D during the first 2 years post-alloHSCT-RIC; the 2-year cumulative incidence of CMV-I and/or CMV-D was 36% (95% CI, 30–44%). Forty-four (64%) of 69 patients developed CMV-I without disease with a median onset of 57 days (range, 7–420) (Table 2). The number of patients who developed CMV-I without CMV-D was 9 of 116 (8%) patients monitored with pp65Ag and 35 of 70 (50%) patients with quantPCR, for a 2-year cumulative incidence of 5 and 27%, respectively ($P < 0.01$). Twenty-four (54%) of 44 patients developed more than one episode of CMV-I [20 (28%) in the quantPCR cohort vs 4 (3%) in the pp65Ag cohort, $P < 0.001$]. Thus, the total number of episodes of CMV-I without CMV-D was 75 (17 and 58 in the pp65Ag and quantPCR groups, respectively).

Concerning the efficacy of different pre-emptive anti-CMV drugs, we did not find statistically significant differences in terms of CMV-I resolution rates between

Table 2 CMV infection and disease by method of peripheral blood screening used

Variables	Patients (n = 186)
Number of patients with CMV-I w/o CMV-D, n (%)	44 (24)
Median time of onset of first CMV-I, days (range)	57 (7–420)
Number of episodes of CMV-I w/o CMV-D, n	75
Patients with 1 or more recurrent episodes of CMV-I, n (%)	24 (13)
• 2 episodes, n	12
• 3 to 6 episodes, n	12
Episodes of CMV-I after d + 100, n (% episodes)	47 (63)
Number of patients with CMV-D, n (%)	25 (13)
Median time of onset of first CMV-D, days (range)	92 (26–465)
Number of episodes of CMV-D, n ^a	29
CMV-D after d + 100, n (% episodes)	14 (48)
<i>Organ involvement in CMV-D</i>	
⇒ Lung, n (%) ^b	12 (41)
• Median onset, days (range)	97 (26–465)
• CMV-D with prior negative screening test, n (% episodes) ^c	8 (66)
⇒ Gastrointestinal, n (%) ^b	12 (41)
• CMV-D with prior negative screening test, n (% episodes) ^c	4 (33)
⇒ Lung + gastrointestinal, n (%)	3 (10)
• Median onset, days (range)	90 (26–374)
• CMV-D with prior negative screening test, n (% episodes) ^c	2 (66)
⇒ Retinitis, n (%)	2 (7)
• CMV-D with prior negative screening test, n (% episodes) ^c	2 (100)
CMV-D resolution, n (% evaluable episodes ^d)	18/25 (72)
CMV-D related death, n (% patients/% episodes)	11 (6/38)

Abbreviations: CMV-I = cytomegalovirus infection; CMV-D = CMV disease; PCR = polymerase chain reaction; w/o = without.

^aIncludes four patients with two episodes of CMV-D.

^bExcludes three patients with lung and gastrointestinal disease.

^cThe only apparent risk factor for CMV-D without a previous positive CMV-I identified in peripheral blood was the screening method used; pp65 antigenemia: 11/14 episodes (79%) vs Quantitative PCR: 5/15 (33%), $P = 0.04$.

^dRefers to 25 CMV-D episodes, which were diagnosed and treated while patients were alive of CMV-D.

ganciclovir, foscarnet and valganciclovir (87 vs 78% vs 90%, respectively, $P=0.2$). Similar efficacy was also observed between patients treated with ganciclovir therapy in the pp65Ag period and valganciclovir in the quantPCR period (88 vs 89%, respectively, $P=0.9$).

CMV-D

Twenty-five (13%) patients developed CMV-D (14 patients in the pp65Ag and 11 in the quantPCR cohort) with a median onset of 92 days (range, 26–465) post transplant, for a 2-year cumulative incidence of 11% (95% CI, 7–17%). Three patients developed CMV-D beyond 1-year after transplant (1 patient in the pp65Ag and 2 in the quantPCR period). As shown in Table 2, a total of 29 CMV-D episodes were diagnosed (14 patients in the pp65Ag and 15 in the quantPCR period), as four patients monitored with quantPCR developed two episodes of CMV-D).

CMV pneumonia occurred in 15 of the 29 episodes of CMV-D, in the context of disseminated disease in 3 cases and as isolated CMV pneumonia in the other 12 cases. Of note, 12/14 (86%) episodes of CMV-D, which occurred during the pp65Ag period, had lung involvement, whereas this occurred in only 3/15 (20%) episodes in the quantPCR group ($P=0.01$).

Of the 29 cases of CMV-D, 16 (55%) had negative results of the CMV peripheral blood screening results in the 15 days before onset of CMV-D, which was more commonly seen in the pp65Ag cohort [11/14 (78%) in the pp65Ag group and 5/15 (33%) in the quantPCR group ($P=0.04$)]. These 16 episodes of CMV-D with negative screening testing occurred at a median interval post transplant of 98 days (range, 26–465). Importantly, the rate of patients who developed CMV pneumonia with negative prior screening tests was unusually high (10/15 cases of CMV pneumonia, 67%), especially in patients monitored with pp65Ag (9/12 (75%) vs 1/3 (33%) in the quantPCR group).

On the other hand, the other 13 cases of CMV-D that occurred in 11 patients developed as a progression of an episode of CMV-I, which was receiving pre-emptive antiviral therapy; these episodes of CMV-D developed at a median interval post transplant of 110 days (range, 31–374). Thus, of the 55 patients who developed an episode of CMV-I (that is, had a positive pp65Ag or a quantPCR screening test) and were started on anti-CMV pre-emptive therapy, 11 (20%) progressed to CMV-D (as 13 episodes of progressive CMV-D occurred in 88 episodes of CMV-I, the rate of progression of CMV-I episodes to CMV-D episodes was 15%). When we compared the characteristics of these 11 patients with those who had CMV-I without CMV-D ($n=44$), we found that 7 of the 11 (63%) patients with progression vs 12 of 44 (27%) patients without progression had lymphopenia at day +30 after transplant ($P=0.03$).

Of the 13 episodes of progressive CMV-D, 8 developed during the first week after the first positive screening test and the start of pre-emptive anti-CMV therapy (median 3 days; range, 2–6), whereas 5 progressed to CMV-D after at least 7 days of pre-emptive induction therapy (median 14 days; range, 9–21). Thus, failure of pre-emptive antiviral

therapy (and possible CMV resistance) occurred in 5/88 (5.5%) episodes of CMV-I (5/80 episodes treated with at least 7 days of pre-emptive therapy).

Four of the 29 episodes of CMV-D were not treated (2 with concomitant GI and lung involvement and 2 with isolated CMV pneumonia) as CMV-D was diagnosed only at autopsy and CMV-I was not identified pre-mortem because of false negative CMV blood screening tests; all 4 patients had been screened with pp65Ag. The other 25 cases of CMV-D were diagnosed and treated before death, but seven (28%) died because of CMV-D, 6 of them with isolated CMV pneumonia and one with disseminated CMV-D. Thus, the 2-year rate of CMV-related mortality was 6% (11/186), 7% (8/116) in the pp65Ag group and 4% (3/70) in the quantPCR cohort. When we compared the CMV-D response rates from both screening periods, we observed higher response rates in the quantPCR group (80 vs 43%, $P=0.05$). This finding is probably explained by the low response rate in cases with CMV pneumonia (4/11 responses, 36%), which was more common in the pp65 patient cohort, as opposed to a response rate of 92% (12/13 cases) in cases with GI disease and 2/2 cases of retinitis.

Risk factors for CMV-D

Table 3 shows the univariate and multivariate analysis of risk factors for CMV-D. In univariate analysis, several variables increased the risk of CMV-D. However, the use of *in vivo* T-cell depletion with ATG or alemtuzumab and use of MMF as GVHD prophylaxis were clearly associated (that is, showed collinearity) with alternative donors (non-HLA-identical siblings), and, in the final multivariate model only this latter variable and requiring high-dose steroids for moderate-to-severe GVHD were shown to have an impact on CMV-D. Patients who had none of these risk factors ($n=80$) had a 2-year incidence of CMV-D of 2% (95% CI, 0.1–5%), those with one risk factor ($n=86$) had an incidence of 18% (95% CI, 11–29%), and those with both risk factors ($n=20$) had an incidence of 30% (95% CI, 10–50%) [$P<0.01$]. These risk factors were equally predictive in the pp65Ag cohort (3, 19 and 33%, respectively) and in the quantPCR cohort (0, 15 and 29%, respectively) (Figure 1).

Discussion

In this study, we retrospectively evaluated the characteristics of CMV infection and disease and the risk factors for CMV-D. To avoid the large clinical heterogeneity currently introduced in the practice of alloHSCT, we focused on one specific clinical scenario (that is, alloHSCT-RIC), and did not include in this study conventional high-dose conditioning regimens nor cord blood transplants.²⁷ In addition, the single-centre nature of the study and analysis of all consecutive patients at risk assure a common supportive care management and applicability of the results to daily practice.

We report an overall incidence of CMV-I and/or disease of 36% in patients who received an alloHSCT-RIC. Since late 2003, with the introduction of the quantPCR for CMV

Table 3 2-year cumulative incidence of CMV-D and univariate and multivariate analysis of risk factors for CMV disease

	CMV-D			
	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Cum. Inc. % (95% CI)	P value	HR (95% CI)	P value
<i>CMV screening technique in PB</i>				
pp65 antigenemia	10 (18–20)			
Quantitative PCR	12 (7–24)	0.5	NA	
<i>Patient age</i>				
<55 years	13 (8–24)			
>55 years	9 (5–18)	0.9	NA	
<i>Patient sex</i>				
Male	17 (11–27)			
Female	9 (4–19)	0.4	NA	
<i>Diagnosis</i>				
AL and MDS	13 (8–31)			
Others	10 (7–20)	0.1	NA	
<i>Advanced disease</i>				
Yes	11 (8–19)			
No	13 (9–36)	0.7	—	
<i>Conditioning regimen</i>				
Fludarabine-Melphalan	11 (7–20)			
Fludarabine-Busulfan	11 (6–22)	0.3	NA	
<i>Recipient/donor CMV serology</i>				
R + /D–	18 (11–33)			
Other	10 (8–18)	0.3	NA	
<i>Donor type</i>				
HLA-id sibling	8 (4–14)			
Alternative (URD or MM related)	32 (18–57)	0.005	2.7 (1.2–6.5)	0.02
<i>Acute GVHD prophylaxis^a</i>				
MMF	27 (16–43)			
MTX	8 (4–14)	0.005	—	
<i>Alemtuzumab/ATG^a</i>				
Yes	20 (9–52)			
No	10 (7–18)	0.3	NA	
<i>Day + 30 and/or + 120 lymphocyte count^b</i>				
<0.5 × 10 ⁹ /l ^c	28 (15–41)			
≥0.5 × 10 ⁹ /l	7 (2–12)	<0.01	—	
<i>Acute GVHD II-IV^b</i>				
Yes	25 (20–55)			
No	8 (5–16)	0.01	—	
<i>Steroid therapy for msGVHD^b</i>				
Yes	22 (19–40)			
No	6 (3–11)	0.001	4.7 (1.7–13)	0.002
<i>Risk category^d</i>				
0 Risk factors	2 (0.1–5)			
1 Risk factor	20 (11–29)	<0.001	Not tested	
2 Risk factors	30 (10–50)			

Abbreviations: Cum. Inc. = cumulative incidence; CI = confidence interval; HR = hazard ratio; AL = acute leukemia; MDS = myelodysplastic syndrome; MMF = mycophenolate mophetil; GVHD = graft-vs-host disease; ms GVHD = moderate-to-severe GVHD; ATG = anti-thymocyte globulin; CMV = cytomegalovirus; PCR = polymerase chain reaction; CMV-D = CMV disease; NA = not applicable.

Lymphocytopenia on day + 30 and/or + 120 are risk factors for CMV-D up to day + 120 and after this time point, analysed as time-dependent variables.

^aThese variables were clearly associated with alternative donors (VUD or MM related), and thus they were not included in the initial multivariate models.

^bThese variables were analysed as time-dependent covariates.

^cA low lymphocyte count was defined as a total count <0.5 × 10⁹/l or a CD4+ lymphocyte count <0.2 × 10⁹/l.

^dThe risk category in each patient is calculated by the presence of none, 1 or the 2 risk factors identified in the multivariate analysis (alternative donor (VUD or MM related) and steroid therapy for msGVHD).

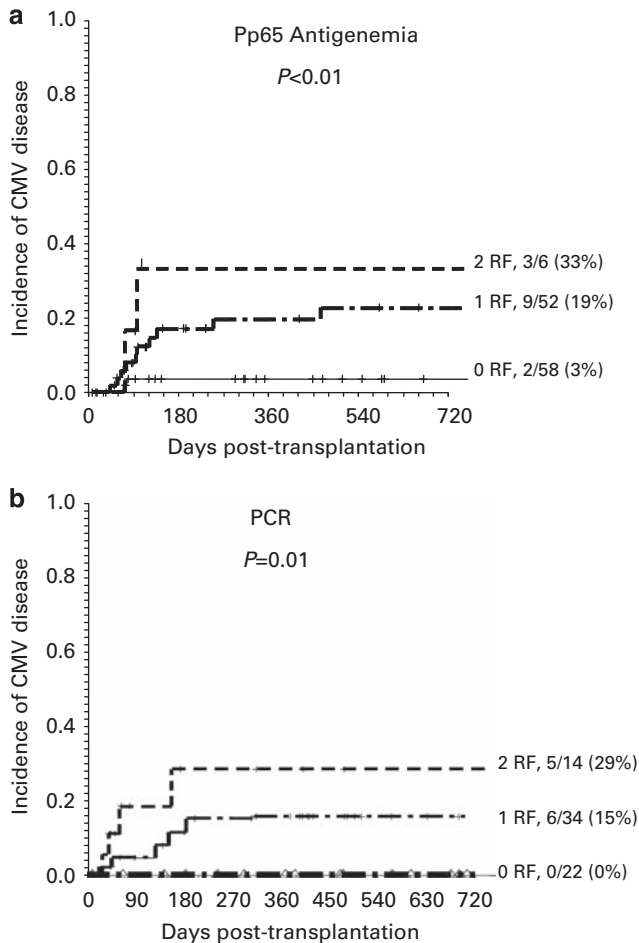


Figure 1 (a) Cumulative incidence of CMV-D in the 116 patients monitored by pp65 antigenemia according to the number of risk factors (steroids for the treatment of moderate-to-severe GVHD and/or alternative donors) (RF = risk factor). (b) Cumulative incidence of CMV-D in the 70 patients monitored by quantitative PCR according to the number of risk factors (steroids for the treatment of moderate-to-severe GVHD and/or alternative donors).

screening, we observed an increase of CMV infection (27% with quantPCR vs 5% pp65Ag test). However, this finding is to a large extent expected, because of a higher sensitivity of PCR techniques than Antigenemia in detecting active viral replication.^{7,14,15,28–30} In addition, relevant changes of patients' characteristics over time led to higher proportion of high-risk patients for CMV-I and CMV-D in the quantPCR period [data not shown], mostly higher proportions of unrelated and mismatched donors (31% in the quantPCR period vs 11% in the pp65Ag period, $P < 0.01$) and *in vivo* T-cell depleting (20 vs 8%, respectively, $P < 0.01$).^{4,9,14,19,31,32}

Several observations in this study support that CMV infection and disease are still a frequent and serious complication, with a significant incidence of CMV-D (11%), similar to that observed earlier in alloHSCT-RIC patients.^{3,9,31} Of note, 48% of the cases of CMV-D occurred late post transplant (after day +100). In this study, we report a median onset of CMV-I of 57 days, which seems to be delayed compared with RIC regimens based on *in vivo* T-cell depletion.⁴ We also observed that

more than half of the patients (24 of 44, 54%) who developed a CMV-I without disease had a recurrence. This observation, in addition to the high rate of late (after day +100) episodes of CMV-I and CMV-D (63 and 48%, respectively) have substantial implications. First, patients conditioned without T-cell depletion are expected to have a high incidence of late CMV reactivations,³ as a high incidence of moderate-to-severe GVHD occurs. It is well known that GVHD and its treatment are major risk factors for CMV disease.¹³ Secondly, it seems reasonable to expand the strict virological surveillance, both by increasing the frequency of CMV screening early post-HSCT, and by extending the strict virological surveillance screening after day +100 until the T-cell anti-CMV reconstitution occurs.

Another observation that is worth highlighting is the large number of cases of CMV-D with negative recent screening blood tests (16/29, 55%), especially in the Antigenemia period: 11/14 (78%) vs 5/15 episodes (33%) in the quantPCR period. Furthermore, especially relevant are the negative screening results for isolated lung involvement [8/12 episodes (66%) (7/9 in the pp65Ag vs 1/3 in the quantPCR period)] in comparison to only 4/12 (33%) episodes with isolated GI involvement. A higher rate of negative pp65Ag screening tests compared with quantPCR have been reported in cases of CMV colitis, retinitis or other localised non-pulmonary sites of CMV-D.^{13,14,33,34} In fact, an advantage in preventing GI CMV-D has been reported with PCR screening techniques in comparison to antigenemia testing.³⁵ However, as most cases of CMV pneumonia with prior negative screening tests occurred during the pp65Ag screening period in this study, molecular screening methods could offer higher sensitivity over pp65Ag in detecting CMV replication before the occurrence of CMV pneumonia. Nonetheless, this study has important methodological limitations, which are mainly a consequence of its retrospective design.

In our multivariate analysis, the major risk factors associated with CMV-D were the use of steroids for moderate-to-severe GVHD and alternative donors (URDs or mismatched related donors). Both of these variables interfere with T-cell immune reconstitution, especially CMV-specific CD8+ and CD4+ T-cells.³⁶ In this respect, the increased risk of CMV-D found in univariate analysis and the high rate of progression from CMV-I to CMV-D among patients with lymphocytopenia on day +30 and/or +120 is a marker of the lack of specific anti-CMV immunity at these time points. However, multivariate analysis failed to confirm their impact, surely as we only had the absolute number of lymphocytes or CD4+ lymphocytes, and not the anti-CMV specific lymphocyte counts. To identify a possible role of ATG or alemtuzumab on the risk of CMV-D, we analysed its risk among patients who did not receive steroids for GVHD (thus, did not develop moderate-to-severe GVHD). Among 95 such patients, 19 developed CMV-I and 5 CMV-D; the rates of these complications among 14 patients who had received ATG or alemtuzumab in the conditioning in comparison to the 81 who had not received any T-cell depletion were 42 vs 6% for CMV-I ($P = 0.01$) and 21 vs 3% for CMV-D ($P = 0.02$) (data not shown). These observations are in line with the delay in the anti-CMV T-cell reconstitution

produced by these drugs.^{37,38} Currently, every effort should be made to quantify such specific immunity, as all the identified risk factors are merely indirect markers of the lack of specific anti-CMV immune reconstitution. Different techniques have been applied for monitoring of CD8+ and/or CD4+ CMV-specific T-cells, mainly by HLA-restricted tetramers containing immunodominant peptides from CMV or measurement of peptide-specific intracellular cytokine staining.^{39–42} Unfortunately, such tests are not available at most transplant centres.

In conclusion, these findings suggest that recipients of alloHSCT-RIC have a significant risk of CMV-D, mostly when significant doses of steroids are required for the management of GVHD and in settings that are predictive of delayed anti-CMV T-cell reconstitution (HLA mismatch ± *in vivo* T-cell depletion to reduce the risk of severe GVHD), irrespective of the type of CMV screening test used (pp65Ag or quantPCR). The observed differences between quantPCR and pp65Ag screening in predicting CMV-D merit further research.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgements

JL Piñana is supported by grants from the Instituto de Salud Carlos III (CM06/00139, Ministerio de Sanidad, Spain).

References

- 1 McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier BM, Molina AJ, Maloney DG *et al*. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood* 2001; **97**: 3390–3400.
- 2 Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G *et al*. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 1998; **91**: 756.
- 3 Martino R, Caballero MD, Canals C, San Miguel J, Sierra J, Rovira M *et al*. Reduced-intensity conditioning reduces the risk of severe infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 341–347.
- 4 Chakrabarti S, Mackinnon S, Chopra R, Kottaridis PD, Peggs K, O’Gorman P *et al*. High incidence of cytomegalovirus infection after nonmyeloablative stem cell transplantation: potential role of Campath-1H in delaying immune reconstitution. *Blood* 2002; **99**: 4357–4363.
- 5 Mohty M, Faucher C, Vey N, Stoppa AM, Viret F, Chabbert I *et al*. High rate of secondary viral and bacterial infections in patients undergoing allogeneic bone marrow mini-transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; **26**: 251–255.
- 6 Mohty M, Jacot W, Faucher C, Bay JO, Zandotti C, Collet L *et al*. Infectious complications following allogeneic HLA-identical sibling transplantation with antithymocyte globulin-

- based reduced intensity preparative regimen. *Leukemia* 2003; **17**: 2168–2177.
- 7 Schetelig J, Oswald O, Steuer N, Radonic A, Thulke S, Held TK *et al*. Cytomegalovirus infections in allogeneic stem cell recipients after reduced-intensity or myeloablative conditioning assessed by quantitative PCR and pp65-antigenemia. *Bone Marrow Transplant* 2003; **32**: 695–701.
- 8 Goodrich JM, Mori M, Gleaves CA, Du Mond C, Cays M, Ebeling DF *et al*. Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1991; **325**: 1601–1607.
- 9 Einsele H, Ehninger G, Hebart H, Wittkowski KM, Schuler U, Jahn G *et al*. Polymerase chain reaction monitoring reduces the incidence of cytomegalovirus disease and the duration and side effects of antiviral therapy after bone marrow transplantation. *Blood* 1995; **86**: 2815–2820.
- 10 Goodrich JM, Bowden RA, Fisher L, Keller C, Schoch G, Meyers JD. Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic marrow transplant. *Ann Intern Med* 1993; **118**: 173–178.
- 11 Gerna G, Baldanti F, Middeldorp J, Lilleri D. Use of CMV transcripts for monitoring of CMV infections in transplant recipients. *Int J Antimicrob Agents* 2000; **16**: 455–460.
- 12 Yun Z, Lewensohn-Fuchs I, Ljungman P, Vahlne A. Real-time monitoring of cytomegalovirus infections after stem cell transplantation using the TaqMan polymerase chain reaction assays. *Transplantation* 2004; **69**: 1733–1736.
- 13 Boeckh M, Gooley TA, Myerson D, Cunningham T, Schoch G, Bowden RA. Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study. *Blood* 1996; **88**: 4063–4071.
- 14 Ljungman P, Aschan J, Lewensohn-Fuchs I, Carlens S, Larsson K, Lönnqvist B *et al*. Results of different strategies for reducing cytomegalovirus-associated mortality in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transplantation* 1998; **66**: 1330–1334.
- 15 Schulenburg A, Watkins-Riedel T, Greinix HT, Rabitsch W, Loidolt H, Keil F *et al*. CMV monitoring after peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation by pp65 antigen and quantitative PCR. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 765–768.
- 16 Manteiga R, Martino R, Sureda A, Labeaga R, Brunet S, Sierra J *et al*. Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided pre-emptive treatment with ganciclovir after allogeneic stem transplantation: a single-center experience. *Bone Marrow Transplant* 1998; **22**: 899–904.
- 17 Valcarcel D, Martino R, Caballero D, Martin J, Ferra C, Nieto JB *et al*. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol* 2008; **26**: 577–584.
- 18 Perez-Simon JA, Díez-Campelo M, Martino R, Sureda A, Caballero D, Canizo C *et al*. Impact of CD34+ cell dose on the outcome of patients undergoing reduced-intensity-conditioning allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 2003; **102**: 1108–1113.
- 19 Martino R, Caballero MD, Canals C, Simón JA, Solano C, Urbano-Ispizua A *et al*. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning: results of a prospective multicentre study. *Br J Haematol* 2001; **115**: 653–659.
- 20 Pérez-Simón JA, Díez-Campelo M, Martino R, Brunet S, Urbano A, Caballero MD *et al*. Influence of the intensity of the conditioning regimen on the characteristics of acute and

- chronic graft-versus-host disease after allogeneic transplantation. *Br J Haematol* 2005; **130**: 394–403.
- 21 Pérez-Simón JA, Martino R, Caballero MD, Valcarcel D, Rebollo N, de la Cámara R *et al*. Grupo Español de Trasplante Hematopoyético GETH. Reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation from unrelated donors: evaluation of mycophenolate mofetil plus cyclosporin A as graft-versus-host disease prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; **14**: 664–671.
 - 22 Rabella N, Perez JL, Pumarola T. The virology laboratory in cytomegalovirus infection. Current possibilities. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1997; **15** (Suppl 2): 69–76.
 - 23 Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 1094–1097.
 - 24 Klein JP, Rizzo JD, Zhang M-J, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: Unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 909–915.
 - 25 Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 1001–1011.
 - 26 Kaplan EL, Meier P. Non parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; **53**: 457–481.
 - 27 Ljungman P, Perez-Bercoff L, Jonsson J, Avetisyan G, Sparrelid E, Aschan J *et al*. Risk factors for the development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; **91**: 78–83.
 - 28 Gerna G, Lilleri D, Baldanti F, Torsellini M, Giorgiani G, Zecca M *et al*. Human cytomegalovirus immediate-early mRNAemia versus pp65 antigenemia for guiding pre-emptive therapy in children and young adults undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a prospective, randomized, open-label trial. *Blood* 2003; **101**: 5053.
 - 29 Solano C, Munoz I, Gutierrez A, Farga A, Prósper F, García-Conde J *et al*. Qualitative plasma PCR assay (amplicor CMV test) versus pp65 antigenemia assay for monitoring cytomegalovirus viremia and guiding preemptive ganciclovir therapy in allogeneic stem cell transplantation. *J Clin Microbiol* 2001; **39**: 3938.
 - 30 Mori T, Okamoto S, Watanabe R, Yajima T, Iwao Y, Yamazaki R *et al*. Dose-adjusted preemptive therapy for cytomegalovirus disease based on real-time polymerase chain reaction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; **29**: 777–782.
 - 31 Junghans C, Storb R, Maris MB, Carter RA, Sandmaier BM, Maloney DG *et al*. Impact of unrelated donor status on the incidence and outcome of cytomegalovirus infections after non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2003; **123**: 662–670.
 - 32 Bainton RD, Byrne JL, Davy BJ, Russell NH. CMV infection following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation using Campath. *Blood* 2002; **100**: 3843.
 - 33 Yanada M, Yamamoto K, Emi N, Naoe T, Suzuki R, Taji H *et al*. Cytomegalovirus antigenemia and outcome of patients treated with pre-emptive ganciclovir: retrospective analysis of 241 consecutive patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; **32**: 801–807.
 - 34 Crippa F, Corey L, Chuang EL, Sale G, Boeckh M. Virological, clinical, and ophthalmologic features of cytomegalovirus retinitis after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; **32**: 214–219.
 - 35 Mori T, Mori S, Kanda Y, Yakushiji K, Mineishi S, Takaue Y *et al*. Clinical significance of cytomegalovirus (CMV) antigenemia in the prediction and diagnosis of CMV gastrointestinal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; **33**: 431–434.
 - 36 Hakki M, Riddell SR, Storek J, Carter RA, Stevens-Ayers T, Sudour P *et al*. Immune reconstitution to cytomegalovirus after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: impact of host factors, drug therapy, and subclinical reactivation. *Blood* 2003; **102**: 3060–3067.
 - 37 Kalwak K, Moson I, Cwian J, Gorczynska E, Toporski J, Turkiewicz D *et al*. A prospective analysis of immune recovery in children following allogeneic transplantation of t-cell-depleted or non-T-cell-depleted hematopoietic cells from HLA-disparate family donors. *Transplant Proc* 2003; **35**: 1551–1555.
 - 38 Doderio A, Carrabba M, Milani R, Rizzo E, Raganato A, Montefusco V *et al*. Reduced-intensity conditioning containing low-dose alemtuzumab before allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: graft-versus-host disease is decreased but T-cell reconstitution is delayed. *Exp Hematol* 2005; **33**: 920–927.
 - 39 Ljungman P. Would monitoring CMV immune responses allow improved control of CMV in stem cell transplant patients. *J Clin Virol* 2006; **35**: 493–495.
 - 40 Gerna G, Lilleri D, Fornara C, Comolli G, Lozza L, Campana C *et al*. Monitoring of human cytomegalovirus-specific CD4 and CD8 T-cell immunity in patients receiving solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2006; **6**: 2356–2364.
 - 41 Lilleri D, Fornara C, Furione M, Zavattoni M, Revello MG, Gerna G. Development of human cytomegalovirus-specific T cell immunity during primary infection of pregnant women and its correlation with virus transmission to the fetus. *J Infect Dis* 2007; **195**: 1062–1070.
 - 42 Cwynarski K, Ainsworth J, Cobbold M, Wagner S, Mahendra P, Apperley J *et al*. Direct visualization of cytomegalovirus-specific T-cell reconstitution after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2001; **97**: 1232–1240.

7. DISCUSIÓN

En los últimos años, el Alo-TPH-AIR ha permitido aplicar una terapia potencialmente curativa a pacientes que no eran candidatos por el alto riesgo de toxicidad extrahematológica y de MRT. El reciente desarrollo de índices pronóstico y en particular de índices de comorbilidad (HCT-CI) ha sido de gran utilidad para conocer el riesgo de mortalidad y supervivencia tanto en el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablatoivo como en el Alo-TPH-AIR. Sin embargo se desconoce si estos modelos permiten predecir el riesgo de complicaciones orgánicas postrasplante. Además, los estudios enfocados en las complicaciones orgánicas en el Alo-TPH-AIR son escasos. Los pacientes que reciben un Alo-TPH-AIR, considerados frágiles en parte por el mayor número de comorbilidades [Xhaard et al. 2008], podrían presentar mayor susceptibilidad al desarrollo de complicaciones orgánicas postrasplante y comprometer los resultados del trasplante al disminuir la supervivencia global. Por ello es especialmente relevante evaluar las complicaciones en el Alo-TPH-AIR de órganos de vital importancia como el aparato respiratorio, el riñón y el sistema nervioso.

El conjunto de los trabajos incluidos en la presente tesis muestran que las complicaciones pulmonares, renales y neurológicas fueron frecuentes (46%, 53% y 16%, respectivamente), aunque no superiores a las reportadas en el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablatoivo [Krowka MJ et al, 1985; Soubani AO et al, 1996; Chan CK et al, 1990; Cordonnier C et al, 1986; Hingorani SR et al, 2005; Chirag RP et al, 2005; Rodriguez TE, 2013; Rosenfeld MR et al, 2006]. Ello demuestra la aceptable tolerancia del Alo-TPH-AIR en pacientes con comorbilidades.

El primero y el segundo de los trabajos presentados en la presente tesis permitieron establecer las causas y orden de aparición de las complicaciones respiratorias, tanto de origen infeccioso como no infeccioso. Las complicaciones infecciosas fueron más frecuentes y precoces que las no infecciosas, con el mismo patrón que en el Alo-TPH mieloablativo [Krowka MJ et al, 1985; Lee HG et al, 2006]. Entre las complicaciones pulmonares no infecciosas la BO fue la más frecuente con una incidencia del 9%, similar a la reportada en otras series [Au BK et al, 2011; Patriarca F et al, 2006]. Respecto a las complicaciones infecciosas pulmonares, el origen viral fue el más frecuente y predominaron las infecciones por VRC y el CMV, seguidas de las neumonías bacterianas, con predominio de *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, y por último la aspergilosis pulmonar invasora (API), probada o probable según los criterios de la EORTC. Este orden etiológico se ha confirmado recientemente en un estudio prospectivo observacional con 169 pacientes, incluidos todo tipo de trasplantes de PH [Lucena CM et al, 2014].

La incidencia de infecciones de origen viral y en particular las de los VRC (32%) fue muy similar a la observada en diferentes series de Alo-TPH, del 30-40% [Milano F et al, 2011; Peck AJ et al, 2007; Martino R et al, 2005; Shah DP et al, 2012]. Estos datos ponen de manifiesto la importancia de estas infecciones que por lo general no disponen de tratamiento específico y/o vacuna, lo que enfatiza la necesidad de ampliar su estudio, minimizar su incidencia y reducir su contagiosidad. Por otra parte, el trabajo presentado como anexo de la presente tesis mostró una incidencia de neumonitis por CMV del 6% muy similar a la de otras series [Gooley TA et al, 2010; Marty FM et al, 2011; George B et al, 2010]. Se objetivó una marcada reducción de la incidencia de enfermedad pulmonar por CMV con la utilización de técnicas moleculares para guiar el tratamiento anticipado respecto a la antigenemia pp65. Esta observación, recientemente confirmada por el grupo de Seattle en una población de 1057 pacien-

tes [Green ML et al, 2012], indica una mejora sustancial en la estrategia de tratamiento anticipado anti-CMV cuando se utilizan técnicas moleculares.

En cuanto a las infecciones pulmonares de origen bacteriano el *Streptococcus pneumoniae* se consolida como una causa importante de neumonía en los receptores de Alo-TPH-AIR. Pese a las recomendaciones de vacunación postrasplante y de profilaxis antibiótica para la prevención de neumonía neumocócica [Tomblyn M et al, 2009], el primer trabajo demuestra que no se ha reducido la incidencia de esta complicación. La escasa efectividad de la vacunación, con apenas un 80% de inmunogeneicidad en el mejor de los casos [Patel SR et al, 2007; Cordonnier C et al, 2008], el gran número de serotipos no cubiertos, las dificultades en demostrar su efecto beneficioso y el creciente aumento de la resistencia neumocócica a antibióticos podrían justificar la limitada eficacia de estas medidas.

En cuanto a la infección fúngica, y en particular la aspergilosis pulmonar invasora, su estudio tiene especial relevancia en el contexto del Alo-TPH-AIR por las diferencias sustanciales con el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo. Pese a la menor duración de la neutropenia en el Alo-TPH-AIR, la incidencia de API fue semejante (13%) a la del Alo-TPH convencional (15%) [Barnes PD et al, 2007; Fukuda T et al, 2003; Garcia-Vidal C et al, 2008; Jantunen E et al, 2008; Mihu CN et al, 2002; Martino R et al, 2002]. Es de destacar que en el Alo-TPH-AIR, la API se produjo llamativamente más tarde (mediana > 6 meses) comparado con el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo (mediana de 3 meses) [Marr KA et al, 2002]. En esta población de Alo-TPH-AIR no se utilizó profilaxis frente a hongos filamentosos de forma sistemática. La similar incidencia y la presentación más tardía podrían estar justificadas, en parte, por la mayor incidencia de EICH tardía, de enfermedad tardía por CMV, por el uso prolongado de esteroides sistémicos y/o de inmunodepresores que se reconocen factores de riesgo de API [Grow WB et al, 2002; Marr KA et al, 2002]. El desarrollo de fár-

macos más eficaces frente a hongos filamentosos junto con la generalización de la profilaxis anti-*aspergillus* (principalmente voriconazol y posaconazol) hacen previsible que se produzcan nuevos cambios en la epidemiología y la incidencia de esta complicación.

La identificación de factores de riesgo de complicaciones pulmonares es sumamente útil para anticiparse a las mismas y/o poder prevenirlas de forma más eficaz. El primer estudio incluyó el análisis y descripción de varias comorbilidades, en especial de la determinada con la evaluación detallada de las PFR. En el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo, tanto la alteración de la FEV1 como de la DLCO se habían asociado a eventos postrasplante como fracaso respiratorio agudo, síndrome de obstrucción sinusoidal hepático, otras complicaciones pulmonares y a la mortalidad [Ghalie R et al, 1992; Matute-Bello G et al, 1998; Parimon T et al, 2005; Goldberg SL et al, 1998]. Según las definiciones de Chien y cols [Chien JW et al, 2005], basadas en las guías de la American Thoracic Society, se observó una prevalencia elevada de alteraciones de la función pulmonar pre-trasplante (66%) en comparación con las del Alo-TPH mieloablativo, del 4% al 59% según las series [Chien JW et al, 2005; Sorrow M et al, 2005; Majhail NS et al, 2008; Parimon T et al, 2005]. Con la definición del HCT-CI desarrollado por Sorrow y cols, la comorbilidad pulmonar en esta misma población de pacientes fue aún más elevada (85%) [Barba P et al, 2010]. La DLCO fue el parámetro más frecuentemente alterado (44%). Lo que corrobora lo previamente observado [White AC et al, 2005; Savani BN et al, 2006; Chien JW et al, 2005].

Entre los potenciales factores de riesgo, ni la alteración de la FEV1 ni la de la DLCO (los únicos parámetros de las PFR incluidos en los diversos modelos de comorbilidad y escalas de riesgo) mostraron ninguna asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de complicaciones pulmonares. Por el contrario, las alteraciones de la FVC y de la TLC sí que mostraron una asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de complicaciones

pulmonares. Ambos parámetros parecen estar íntimamente relacionados con la fuerza de los músculos respiratorios [Grassino A et al, 1988; White AC et al, 2005], por lo que no es de extrañar que en esta cohorte de pacientes la fuerza muscular en general y la respiratoria en particular podrían estar sustancialmente comprometidas. De confirmarse dichos resultados, se abriría una oportunidad con vistas a mejorar la fuerza de la musculatura respiratoria de estos pacientes y por ende mejorar los valores de la FVC y la TLC mediante un entrenamiento específico pre y postrasplante. En este sentido varios investigadores han demostrado la viabilidad de mejorar la función pulmonar mediante ejercicios específicos en paciente candidatos a Alo-TPH [Bom EA et al, 2012], al igual que prevenir complicaciones pulmonares durante el post-operatorio en pacientes de cirugía cardíaca [Hulzebos EH et al, 2006]. Cabe destacar el hecho de que ambos parámetros mantuvieran su significación estadística en el análisis multivariante, tras incluir los diferentes modelos predictivos (HCT-CI, PAM score y LFs). De hecho, en el análisis multivariante los diferentes modelos predictivos de supervivencia y mortalidad (HCT-CI, PAM score y LFs) no se asociaron al desarrollo de complicaciones pulmonares. Este hecho sugiere que estos modelos podrían incrementar su capacidad predictiva si la valoración de la comorbilidad pulmonar incluyera el resto de parámetros de las PFR. Por otro lado, la diferencia de sexo (donante mujer/receptor hombre) y haber recibido más de 3 líneas de tratamiento previo al Alo-TPH-AIR sí que se asociaron significativamente al desarrollo posterior de complicaciones pulmonares. La diferencia de sexo (donante mujer y receptor hombre) como factor de riesgo se explica por la estrecha relación entre esta condición y el desarrollo de EICH [Atkinson K et al, 1990], el cual a su vez es un factor de riesgo reconocido para el desarrollo de infecciones pulmonares y BO [Holland HK et al, 1988]. El haber recibido un mayor número de líneas de tratamiento previas mostró una clara asociación con las

alteraciones de los valores de la TLC y la FVC, por lo que este factor podría considerarse un marcador subrogado de debilidad muscular que merece un estudio más detenido.

En cuanto a los factores de riesgo para el desarrollo de API en pacientes Alo-TPH-AIR, se observó que el tratamiento con esteroides como tratamiento de la EICH moderada-severa, el desarrollo de enfermedad por CMV y la IRVB por VRC fueron los principales factores de riesgo en esta población de pacientes. Varios grupos han observado asociación entre infecciones respiratorias por VRC y el desarrollo posterior de API [Marr KA et al, 2002; Garcia-Vidal C et al, 2008; Hasejima N et al, 2005]. Esta asociación sugiere que la infección viral del tracto respiratorio podría producir alteraciones estructurales en la mucosa del árbol respiratorio e impedir el normal funcionamiento de los mecanismos de aclaramiento del moco del epitelio respiratorio, lo que favorecería la colonización, proliferación e invasión de elementos fúngicos. Esta interacción entre virus y hongos podría ser similar a la existente entre virus respiratorios y bacterias en pacientes pediátricos [Bosch AATM et al, 2013]. El conocimiento de dichas interacciones puede tener implicaciones clínicas directas como apoyar una profilaxis antifúngica dirigida en pacientes Alo-TPH-AIR que desarrollen IRVB por VRC o enfermedad por CMV, durante el tiempo que persistan los síntomas. La identificación de dichos factores de riesgo en una población que no ha recibido profilaxis anti-*aspergillus* es de gran utilidad ya que permite identificar cuando (cuando se presentes los factores de riesgo), cuanto tiempo (mientras duren los factores de riesgo) y a quién debe dirigirse la profilaxis frente a hongos filamentosos tipo *aspergillus* con fármacos que por lo general son muy costosos y no exentos de toxicidad e importantes interacciones.

Los dos primeros trabajos incluidos en la presente tesis demuestran que la presencia de múltiples comorbilidades pre-trasplante no incrementa la incidencia de complicaciones pulmonares. La reducción de la dosis del acondicionamiento podría compensar el efecto de las

comorbilidades, por lo que resulta conveniente verificar si esto mismo ocurre con otros órganos. Por tanto, el estudio de la función y complicaciones de otros órganos como el riñón, determinados mediante métodos precisos, podrían corroborar esta hipótesis.

Por ello el tercer trabajo incluido en la presente tesis estudió la alteración de la función renal en el Alo-TPH-AIR mediante la estimación del aclaramiento de creatinina a partir de la fórmula MDRD simplificada $\{GFR \text{ (mL/min por } 1.73 \text{ m}^2) = 186 * PCr^{-1.154} * edad^{-0.203} (* 0.742 \text{ si mujer})\}$ y evaluada en la misma cohorte de pacientes. Como hallazgo de interés, la gran mayoría de los pacientes (86%) presentaron un FRA de carácter leve frente a tan sólo un 14% de FRA moderados o severos. Estos datos confirmaron la menor toxicidad renal en el Alo-TPH-AIR en comparación no sólo con los Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo en donde las incidencias de FRA moderado-severo reportadas oscilan entre el 21% y 73% [Parikh CR et al, 2002; Hahn T et al, 2003; Parikh CR et al, 2004; Chirag RP et al, 2005; Parikh CR et al, 2005; Kersting S et al, 2007; Ando M et al, 2010], sino también con otros tipos de Alo-TPH-AIR basados en ICT con incidencias de 30% a 47% [Chirag RP et al, 2005; Parikh CR et al, 2008; Kersting S et al, 2008]. La menor incidencia de FRA moderado-severo en nuestros pacientes en comparación con otros procedimientos de intensidad reducida podría explicarse por varios motivos. Primero, los acondicionamientos utilizados en nuestros pacientes no incluyeron ICT que es una causa bien establecida de daño renal [Cohen EP, 2003]. Segundo, la monitorización estrecha de los niveles de CsA en sangre entre 200-300 ng/mL, en comparación con otros estudios donde el ajuste de dosis de CsA se realizó para mantener niveles entre 200 a 600 ng/mL [Parikh CR et al, 2008; Kersting S et al, 2008] se asoció muy probablemente a una menor exposición a CsA. Esta hipótesis se apoya en diversos estudios

que han mostrado que los niveles en sangre de CsA están directamente relacionados con la nefrotoxicidad [Hows JM et al, 1983; Kennedy MS et al, 1983].

El estudio etiológico del FRA en el Alo-TPH-AIR demostró que la CsA es la principal causa de FRA al estar implicada en el 71% de los casos y fue la única causa identificada de FRA en el 50% de las ocasiones. Estos datos corroboran lo observado en diversos estudios [da Silva JB et al, 2014]. La segunda causa de FRA (15%, referida como deshidratación) se debió a la incapacidad de mantener una hidratación adecuada en el domicilio. Más del 50% de los casos de FRA ocurrieron tras el alta hospitalaria. El FRA se presentó con una mediana de 31 días tras la infusión de progenitores, con el 81% en los primeros 100 días del trasplante. Tras el alta hospitalaria, es frecuente que una gran parte de los pacientes mantengan cierto grado de toxicidad gastrointestinal producida por el acondicionamiento (diarrea, mucositis, náuseas y/o vómitos), junto a un aumento de las pérdidas insensibles a través de la piel (frecuentemente dañada por el acondicionamiento y/o EICH cutánea, o procesos febriles), lo que complica mantener un balance hídrico adecuado en el periodo precoz (hasta el día +100). Generalmente la hidratación en domicilio no es factible por la falta de recursos de enfermería domiciliar y ésta suele indicarse en los hospitales de día de los centros de trasplante una vez ya se ha establecido el FRA; esta hidratación se asocia en la mayor parte de casos a una mejora o resolución del FRA. No existen hasta el momento actual, estudios que evalúen el beneficio de la hidratación intravenosa preventiva en el domicilio.

El análisis de los factores de riesgo para el desarrollo de FRA incluyó aspectos como la insuficiencia renal pre-trasplante, la hipertensión arterial (HTA), la cardiopatía isquémica y la diabetes mellitus (DM). Un 25% de los pacientes presentaron un aclaramiento de creatinina pre-trasplante $<60 \text{ mL/min/1.73m}^2$. En un primer análisis, la presencia de insuficiencia renal pre-trasplante no se asoció a una mayor frecuencia de FRA postrasplante (51% vs 55%).

Tampoco la HTA, ni los antecedentes de cardiopatía isquémica fueron factores de riesgo para el desarrollo de FRA. Por el contrario, la DM (22 pacientes, 12%) fue el factor de riesgo de mayor peso. Hasta la fecha los estudios que habían analizado el efecto de la DM en el desarrollo de FRA en el contexto del Alo-TPH eran contradictorios. Mientras que el estudio de Chirag y cols mostró una débil asociación [Chirag RP et al, 2005] otros autores no la observaron [Kersting S et al, 2008]. Dado que la diabetes es la causa más frecuente de enfermedad renal crónica en la población general, a priori parecería lógica la asociación entre DM pretrasplante y el FRA y/o crónico. El presente estudio fue el primero en observar una clara asociación entre la DM pre-trasplante y el desarrollo posterior de FRA en el contexto del Alo-TPH. Es muy posible que esta asociación implique múltiples factores. Primero, el uso de CsA se ha asociado a empeoramiento de la función renal en pacientes diabéticos [Parving HH et al, 1999]. Al mismo tiempo, la CsA parece alterar el metabolismo de la glucosa, al reducir la secreción de insulina e inducir resistencia a la misma en pacientes diabéticos receptores de trasplante renal [Qiu J et al, 2006]. Esto, junto a la frecuente utilización de corticoesteroides que a su vez producen tendencia a la hiperglicemia, podría justificar el desarrollo final del FRA en pacientes con DM de base. Otros factores de riesgo identificados en este estudio fueron la administración de MTX como profilaxis de la EICH, el haber recibido más de 3 líneas de quimioterapia previas al trasplante y el desarrollo de EICH aguda grados 3-4. La utilización de MTX se ha asociado a mayor incidencia de mucositis [Piñana JL et al, 2010], lo que justificaría una mayor dificultad para mantener una ingesta hídrica adecuada en el periodo postrasplante inmediato. Además es bien conocido el perfil nefrotóxico del metotrexate aunque se utilice en dosis bajas [Widemann BC et al, 2006]. Al igual que con las complicaciones pulmonares, el número de líneas de tratamientos previas fue factor pronóstico de FRA. La frecuente utilización de poliquimioterapia con agentes con perfil nefrotóxico conocido podría

producir un daño renal previo con reducción de la masa renal funcionante. Este daño renal previo al trasplante podría pasar desapercibido pero la continua administración de nefrotóxicos (acondicionamiento, antibióticos, antifúngicos, inhibidores de la calcineurina, etc) acabaría desembocando en un FRA. Por otra parte, no es sorprendente que la EICH aguda severa se asocie a FRA. La relación entre la EICH y FRA ha sido descrito en un estudio previo [Kersting S et al, 2008]. Generalmente, en la EICH aguda severa suele haber compromiso del tubo digestivo, en forma de náuseas, vómitos y diarreas, que desbordan la capacidad de los pacientes para mantener el balance hídrico. Por otro lado, la relación entre la EICH y el FRA muy probablemente sea bidireccional. El desarrollo de FRA obliga a reducciones de dosis o suspensión de inmunosupresores, lo que reduce a su vez los niveles en plasma. Este hecho justificaría la relación entre niveles bajos en plasma de CsA y el desarrollo de EICH aguda en el Alo-TPH-AIR [Garcia-Cadenas I et al, 2014].

A tenor de los resultados de este tercer trabajo, se puede afirmar que el FRA postrasplante en el contexto del Alo-TPH-AIR es frecuente pero de menor intensidad que en el Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo. En ese sentido, la mayor frecuencia de comorbilidades se compensa con la reducción en la toxicidad del acondicionamiento.

Tras evaluar las complicaciones orgánicas pulmonar y renal en el Alo-TPH-AIR, el cuarto trabajo se centró en el estudio de un órgano fundamental menos explorado en este contexto, como es el sistema nervioso en la misma cohorte de pacientes. Este estudio permitió observar que la frecuencia de complicaciones neurológicas fue similar a la observada en el Alo-TPH convencional. Además, como hallazgo relevante y original, se observó que las complicaciones del SNC fueron más frecuentes y precoces que las del SNP. Este hecho podría justificarse por una parte por los escasos síntomas que predominan en la afectación del SNP,

por ello identificada y diagnosticada en fases evolucionadas cuando impacta en la calidad de vida de los pacientes. Por otra parte, la etiología de la misma deriva del uso prolongado de IS, lo que justifica la aparición más tardía.

En cuanto a las características y causas de las diferentes complicaciones neurológicas y en línea con otros estudios [Mathew RM et al, 2007], se observó que la mayor parte de complicaciones del SNC eran encefalitis de origen tóxico-metabólico (48%) y meningoencefalitis de origen infeccioso (22%). En los eventos que afectaban al SNP había un predominio de mono-neuropatías (5 de los 8 episodios). Como ocurrió con el FRA, de nuevo la CsA fue la responsable de la mayoría de las complicaciones neurológicas de origen tóxico, como única responsable en 8 (26%) de los 31 episodios. Recientemente, otros grupos han observado resultados similares en pacientes pediátricos [Uckan D et al, 2005; Azik F et al, 2014; Kang JM et al, 2015]. El trastorno electrolítico y del endotelio vascular producido por la CsA podría justificar en parte la toxicidad neurológica [Gijtenbeek JM et al, 1999; Bechstein WO, 2000]. Un estudio basado en cultivos celulares neuro-gliales de cortex de origen murino sugiere que la toxicidad neurológica por CsA podría deberse a una inducción de la apoptosis en neuronas y oligodendrocitos, mayor cuanto más elevada es la concentración de CsA utilizada [McDonald JW et al, 1996]. Estos datos, al igual que ocurre con el FRA, ponen de manifiesto la excesiva toxicidad de la CsA por lo que parece justificado que el esfuerzo se dirija al desarrollo de nuevos inmunodepresores con un mejor perfil de toxicidad.

Tras incluir en el análisis diferentes variables de comorbilidad, factores de riesgo cardiovascular y reconocidos factores de riesgo de eventos neurológicos, no se identificó ningún factor de riesgo significativo. Es muy probable que el escaso número de pacientes incluidos y número de eventos neurológicos comprometan la potencia estadística de identificación de factores de riesgo. Otros grupos identificaron el tipo de trasplante, el estado de la enfermedad

de base, la intensidad del acondicionamiento, la leucemia mieloide aguda, la EICH > grado II, el uso de CsA, el uso de alemtuzumab, el sexo femenino, el uso de sangre del cordón umbilical (UCB) como fuente de progenitores y la TBI como parte de acondicionamiento como factores de riesgo de complicaciones neurológicas [Avivi I et al, 2004; Siegal D et al. 2007; Weber C et al, 2008].

En cuanto al impacto de las complicaciones orgánicas estudiadas en la presente tesis doctoral en los resultados del trasplante, se observó que estas tuvieron un importante efecto negativo en la MRT y en la supervivencia en el Alo-TPH-AIR. El desarrollo de complicaciones pulmonares se asoció a una menor supervivencia global (33% vs 51%, $p = 0.05$). Entre ellas, las infecciones por VRC y en particular las IRVB presentaron una mayor MRT y menor SG. Otros estudios también han mostrado que las infecciones respiratorias por VRC se asocian a mayor mortalidad que oscila entre el 10% y el 50% en función del virus estudiado [Chemaly RF et al, 2012; Renaud C et al, 2011; Whimbey E et al, 1997; Boeckh M, 2008]. En cambio, el desarrollo de API, clásicamente con una mortalidad del 60% al 80% [Upton A et al, 2007; Cordonnier C et al, 2006; Subira M et al, 2002; Nivoix Y et al, 2008], no indujo una elevada mortalidad en el Alo-TPH-AIR. Esta observación va en línea con recientes estudios del grupo de Seattle con reducción de la mortalidad en el Alo-TPH-AIR en comparación con los receptores de Alo-TPH convencional [Fukuda T et al, 2003]. Además, el grupo del MD Anderson también observó recientemente una marcada reducción en la mortalidad, especialmente en los pacientes tratados con nuevos azoles [Ramos ER et al, 2011]. El FRA también se asoció a una mayor incidencia de MRT y menor supervivencia global, en especial en aquellos que no tuvieron la capacidad de recuperar la función renal. Asimismo, el grado de afectación renal fue inversamente proporcional a la probabilidad de supervivencia (no FRA 70% vs FRA grado 1

58% vs FRA grados 2-3 33%, $p = 0.003$). A su vez, el desarrollo de complicaciones neurológicas también afectó negativamente a la MRT y a la supervivencia global, en especial las complicaciones del SNC. Del impacto de las complicaciones orgánicas en la MRT y la supervivencia observadas en la presente tesis se pueden extraer varias conclusiones; primero, que la tolerancia del Alo-TPH-AIR en esta población de pacientes es similar a la del Alo-TPH con acondicionamiento mieloablatoivo en pacientes con menor número de comorbilidades y por lo general más jóvenes. Esta observación justifica la utilización del Alo-TPH-AIR en pacientes frágiles; segundo, que la utilización de criterios más laxos de exclusión (en especial los valores de la FEV1 y la DLCO $<30\%$ y sin restricción en cuanto a la cifra de creatinina) no ha comportado un aumento de la MRT en el Alo-TPH-AIR en comparación con el Alo-TPH convencional; tercero, que es necesario continuar los estudios para identificar las complicaciones orgánicas y sus factores de riesgo en el contexto del Alo-TPH-AIR, mejorar los resultados del procedimiento y adaptar el tipo de trasplante en función de los factores de riesgo y la presencia de comorbilidades.

Por último, los estudios incluidos en la presente tesis doctoral han permitido identificar otros factores de riesgo de MRT y de supervivencia en el Alo-TPH-AIR como el haber recibido más de 3 líneas de tratamiento previas al trasplante y la DM pre-trasplante. Estos hallazgos merecen una mención especial. El haber recibido más de 3 líneas de tratamiento no sólo fue un factor pronóstico muy importante de complicaciones pulmonares y de FRA, sino que también lo fue de MRT y supervivencia global. Este hecho sugiere que los pacientes con mayor número líneas de tratamiento se encuentran en peores condiciones clínicas, muy probablemente por la naturaleza agresiva de la enfermedad pero también por las posibles complicaciones y secuelas secundarias a la toxicidad de la quimioterapia recibida. Por ello es conve-

niente considerar la intensidad y el tipo de fármacos empleados con anterioridad al Alo-TPH-AIR para identificar los pacientes con mayor riesgo de mortalidad y reducir incluso más las dosis de los fármacos del acondicionamiento. En cuanto a la DM pretrasplante, un estudio de registro japonés con 7626 pacientes recientemente ha confirmado que la DM (asociada a edad avanzada, enfermedad avanzada y a la utilización de acondicionamientos de toxicidad reducida) fue factor de riesgo de MRT, de mortalidad por causas infecciosas y de mortalidad global [Takano K et al, 2015]. Parece por lo tanto necesario prestar una especial atención al grado de severidad de la DM pretrasplante (retinopatía, nefropatía y arteriopatía diabética) para establecer con mayor certeza el riesgo del procedimiento y a su vez realizar un control más estricto de estos pacientes tanto pre como postrasplante.

8. CONCLUSIONES

Trabajo número 1

La frecuencia de complicaciones pulmonares es similar a la observada en receptores de Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo y éstas se asociaron a menor supervivencia. Las alteraciones de las PFR son frecuentes en pacientes que reciben un Alo-TPH-AIR. La FVC y la TLC son útiles para predecir las complicaciones pulmonares y la supervivencia global por lo que se deberían considerar en el índice de comorbilidad y en las escalas de riesgo.

Trabajo número 2

Las infecciones respiratorias por VRC fueron frecuentes. La IRVB por VRC se asoció a mayor MRT y fue un factor de riesgo para el desarrollo de API. La API se observa con frecuencia similar después de Alo-TPH-AIR y de Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo, pero su aparición es más tardía en el Alo-TPH-AIR y en la serie estudiada no tuvo impacto ni en la MRT ni en la supervivencia.

Trabajo número 3

El FRA tras el Alo-TPH-AIR es frecuente y se asocia a mayor MRT y menor supervivencia global. La CsA fue la responsable de la mayor parte de casos de FRA. Entre los factores de riesgo, la DM y el haber recibido más de 3 líneas de tratamiento previo se asocian a mayor frecuencia de FRA, mayor MRT y menor supervivencia global.

Trabajo número 4

Las complicaciones neurológicas después de Alo-TPH-AIR son diversas y predominan las del SNC sobre las del SNP. La aparición de complicaciones del SNC se asocia a mayor MRT y menor supervivencia global. La toxicidad por CsA fue una causa importante de toxicidad neurológica tras el Alo-TPH-AIR.

Anexo número 1

La frecuencia de neumonitis por CMV en el Alo-TPH-AIR fue similar a la observada en series de Alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo. La estrategia de tratamiento anticipado guiada por técnicas moleculares de detección de la replicación del CMV ha reducido la incidencia de neumonitis por CMV en el Alo-TPH-AIR.

9. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Abboud I, Peraldi MN, Hingorani S. Chronic Kidney Diseases in Long-Term Survivors after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Monitoring and Management Guidelines. *Semin Hematol.* 2012; 49 (1): 73-82.
- 2) Afessa B, Litzow MR, Tefferi A. Bronchiolitis obliterans and other late onset non-infectious pulmonary complications in hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2001; 28: 425-434.
- 3) Afessa B, Tefferi A, Hoagland HC, Letendre L, Peters SG. Outcome of recipients of bone marrow transplants who require intensive-care unit support. *Mayo Clin Proc.* 1992; 67: 117–122.
- 4) Aguilar-Guisado M, Jiménez-Jambrina M, Espigado I et al. Pneumonia in allogeneic stem cell transplantation recipients: a multicenter prospective study. *Clin Transplant.* 2011; 25 (6): E629-38.
- 5) Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med.* 2012; 367 (16): 1487-1496.
- 6) Ando M, Mori J, Ohashi K, Akiyama H, Morito T, Tsuchiya K et al. A comparative assessment of the RIFLE, AKIN and conventional criteria for acute kidney injury after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 1427–1434.
- 7) Ando M, Ohashi K, Akiyama H, Sakamaki H, Morito T, Tsuchiya K et al. Chronic kidney disease in long-term survivors of myeloablative allogeneic haematopoietic cell transplantation: prevalence and risk factors. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25: 278–282.
- 8) Antin JH. Acute graft-versus-host disease: inflammation run amok? *J Clin Invest* 2001;107(12):1497-1498
- 9) Antonini G, Ceschin V, Morino S, et al. Early neurologic complications following allogeneic bone marrow transplant for leukemia: a prospective study. *Neurology.* 1998; 50: 1441-1445.
- 10) Assis SM, Monteiro JL, Seguro AC. L-Arginine and allopurinol protect against cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation.* 1997; 63 (8): 1070-3.

- 11) Atkinson K, Horowitz MM, Gale RP et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood*. 1990; 75 (12): 2459-2464.
- 12) Atkinson K, Nivison-Smith I, Dodds A et al. A comparison of the pattern of interstitial pneumonitis following allogeneic bone marrow transplantation before and after the introduction of prophylactic ganciclovir therapy in 1989. *Bone Marrow Transplant*. 1998; 21: 691-695.
- 13) Au BK, Au MA, Chien JW. Bronchiolitis obliterans síndrome epidemiology after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1072–8.
- 14) Au BK, Gooley TA, Armand P, Fang M, Madtes DK, Sorrow ML et al. Reevaluation of the pretransplant assessment of mortality score after allogeneic hematopoietic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21 (5): 848-54.
- 15) Avivi I, Chakrabarti S, Kottaridis P, et al. Neurological complications following alemtuzumab-based reduced-intensity allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2004; 34: 137-142.
- 16) Azik F, Yazal Erdem A, Tavil B, Bayram C, Tunç B, Uçkan D. Neurological complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children, a single center experience. *Pediatr Transplant*. 2014; 18 (4): 405-11.
- 17) Baker WJ, Royer GL Jr, Weiss RB: Cytarabine and neurologic toxicity. *J Clin Oncol*. 1991; 9: 679-693.
- 18) Barba P, Piñana JL, Martino R, Valcárcel D, Amorós A, Sureda A et al. Comparison of two pretransplant predictive models and a flexible HCT-CI using different cut off points to determine low-, intermediate-, and high-risk groups: the flexible HCT-CI Is the best predictor of NRM and OS in a population of patients undergoing allo-RIC. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010; 16 (3): 413-20.
- 19) Barba Suñol P, Martino Bofarull R, Sierra Gil, J. Evaluación de la función hepática en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos con acondicionamiento de toxicidad reducida. ISBN 9788449046537 2014.
- 20) Barloon TJ, Galvin JR, Mori M et al. High-resolution ultrafast chest CT in the clinical management of febrile bone marrow transplant patients with normal or non-specific chest roentgenograms. *Chest*. 1991; 99: 928–933.

- 21) Barnes PD, Marr KA. Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Br J Haematol.* 2007; 139: 519–531.
- 22) Batchelor TT, Taylor LP, Thaler HT, et al: Steroid myopathy in cancer patients. *Neurology.* 1997; 48: 1234-1238.
- 23) Bayik MM, Akoglu T, Tuglular TF, Akoglu E, Tezal M, et al. Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with defibrotid. *Am J of Hematology.* 1993; 43: 74–75.
- 24) Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int.* 2000; 13:313-326.
- 25) Becklake M, Crapo RO, Buist AS: Lung function testing: Selection of reference values and interpretative strategies. An official statement of the American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 144: 1202-1218.
- 26) Belkacemi Y, Labopin M, Hennequin C, Hoffstetter S, Mungai R, Wygoda M et al. Reduced-intensity conditioning regimen using low-dose total body irradiation before allogeneic transplant for hematologic malignancies: experience from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007; 67: 544–551.
- 27) Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* 2004; 8: R204-12.
- 28) Bertz H, Potthof K, Finke J, et al. Allogeneic stem-cell transplantation from related and unrelated donors in older patients with myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2003; 21: 1480-1484.
- 29) Bhalla KS, Wilczynski SW, Abushamaa AM, et al. Pulmonary toxicity of induction chemotherapy prior to standard or high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic support. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161: 17-25.
- 30) Blaise D, Bay JO, Faucher C, Michallet M, Boiron J-M, Choufi B et al. Reduced-intensity preparative regimen and allogeneic stem cell transplantation for advanced solid tumors. *Blood.* 2004; 103: 435–441.

- 31) Bleggi-Torres LF, de Medeiros BC, Werner B et al. Neuropathological findings after bone marrow transplantation: an autopsy study of 180 cases. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 25: 301–307.
- 32) Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood.* 2003; 101: 407–414.
- 33) Boeckh M. Current antiviral strategies for controlling cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: prevention and therapy. *Transpl Infect Dis.* 1999; 1: 165–178.
- 34) Boeckh M. The challenge of respiratory virus infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Br J Haematol.* 2008; 143: 455-467.
- 35) Bom EA, de Souza CV, Thiesen RA, Miranda EC, de Souza CA. Evaluation of respiratory conditions in early phase of hematopoietic stem cell transplantation. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012; 34 (3): 188-192.
- 36) Bosch AATM, Biesbroek G, Trzcinski K et al. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS pathogens.* 2013; 9 (1): e1003057.
- 37) Brukamp K, Doyle AM, Bloom RD, Bunin N, Tomaszewski JE, Cizman B. Nephrotic syndrome after hematopoietic cell transplantation: do glomerular lesions represent renal graft-versus-host disease? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006; 1 (4): 685-694.
- 38) Bunte MC, Patnaik MM, Pritzker MR, Burns LJ. Pulmonary veno-occlusive disease following hematopoietic stem cell transplantation: a rare model of endothelial dysfunction. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41 (8): 677-686.
- 39) Burger PC, Kamenar E, Schold SC, et al: Encephalomyelopathy following high-dose BCNU therapy. *Cancer.* 1981; 48: 1318-1327.
- 40) Chakrabarti S, Mautner V, Osman H et al. Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation, immunosuppression, and immune recovery. *Blood.* 2002; 100 (5): 1619–1627.
- 41) Chan CK, Hyland RH, Hutcheon MA. Pulmonary complications following bone marrow transplantation. *Clin Chest Med.* 1990; 11: 323–332.
- 42) Chang A, Hingorani S, Kowalewska J, et al. Spectrum of renal pathology in hematopoietic cell transplantation: a series of 20 patients and review of the literature, *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 2: 1014–1023.

- 43) Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987; 40: 373-383.
- 44) Chemaly RF, Hanmod SS, Rathod DB et al. The characteristics and outcomes of parainfluenza virus infections in 200 patients with leukemia or recipients of hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2012; 119: 2738-2745.
- 45) Chen CS, Boeckh M, Seidel K et al. Incidence, risk factors, and mortality from pneumonia developing late after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 32 (5): 515-522.
- 46) Chien JW, Duncan S, Williams KM, Pavletic SZ. Bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation-an increasingly recognized manifestation of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010; 16: S106 –114.
- 47) Chien JW, Madtes DK, Clark JG. Pulmonary function testing prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 429–435.
- 48) Chien JW, Maris MB, Sandmaier BM, Maloney DG, Storb RF, Clark JG: Comparison of lung function after myeloablative and 2 Gy of total body irradiation-based regimens for hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005; 11: 288-296.
- 49) Chien JW, Martin PJ, Flowers ME et al. Implications of early airflow decline after myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33: 759–764.
- 50) Chien JW, Martin PJ, Gooley TA et al. Airflow obstruction after myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168: 208–214.
- 51) Childs R, Clave E, Contentin N, et al. Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. *Blood.* 1999; 94: 3234–3241.
- 52) Chirag RP, Robert WS, Barry S, et al. Comparison of ARF after myeloablative and nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2005; 45: 502-509.

- 53) Clark JG, Schwartz DA, Flournoy N et al. Risk factors for airflow obstruction in recipients of bone marrow transplants. *Ann Intern Med.* 1987; 107: 648–656.
- 54) Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976; 16:31-41.
- 55) Coffman TM, Carr DR, Yarger WE, Klotman PE. Evidence that renal prostaglandin and thromboxane production is stimulated in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation.* 1987; 43 (2): 282-5.
- 56) Cohen EP, Piering WF, Kabler-Babbitt C, Moulder JE. End-stage renal disease (ESRD) after bone marrow transplantation: poor survival compared to other causes of ESRD. *Nephron.* 1998; 79: 408–12.
- 57) Cohen EP, Robbins MEC. Radiation nephropathy. *Semin Nephrol.* 2003; 23 (5): 486-499.
- 58) Colombo AA, Rusconi C, Esposito C, et al. Nephrotic syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as a late complication of chronic graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2006; 81(8):1087-1092.
- 59) Cordonnier C, Bernaudin JF, Bierling P et al. Pulmonary complications occurring after allogeneic bone marrow transplantation. A study of 130 consecutive transplanted patients. *Cancer.* 1986; 58: 1047–1054.
- 60) Cordonnier C, Engelhard D, Ljungman P et al. Definitions of infectious diseases and complications after stem cell transplant. Web site of the EBMT 2001.
- 61) Cordonnier C, Labopin M, V C, et al. Influence of immunisation timing on the response to conjugate-pneumococcal vaccine after allogeneic stem cell transplant: final results of the EBMT IDWP01 Trial. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41; s2-s2.
- 62) Cordonnier C, Ribaud P, Herbrecht R et al. Prognostic factors for death due to invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation: 1-year retrospective study of consecutive patients at French transplantation centers. *Clin Infect Dis.* 2006; 42: 955–963.
- 63) Crawford SW, Fisher L. Predictive value of pulmonary function tests before marrow transplantation. *Chest.* 1992; 101: 1257–1264.
- 64) Crawford SW, Longton G, Storb R. Acute graft-versus-host disease and the risks for idiopathic pneumonia after marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 1993; 12: 225-231.

- 65) da Silva JB, de Melo Lima MH, Secoli SR. Influence of cyclosporine on the occurrence of nephrotoxicity after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a systematic review. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014; 36 (5): 363-8.
- 66) De La Camara R, Tomas JF, Figuera A, et al: High dose busulfan and seizures. *Bone Marrow Transplant.* 1991; 7: 363-364.
- 67) Delgado J, Cooper N, Thomson K, et al. The importance of age, fludarabine, and total body irradiation in the incidence and severity of chronic renal failure after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006; 12: 75-83.
- 68) Den Haan JM, Sherman NE, Blokland E, et al. Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science.* 1995; 268 (5216): 1476-1480.
- 69) Denning DW. Early diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet.* 2000; 355: 423–424.
- 70) Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40 (2): 221-6.
- 71) Diaconescu R, Flowers CR, Storer B, Sorrow ML, Maris MB, Maloney DG et al. Morbidity and mortality with nonmyeloablative compared with myeloablative conditioning before haematopoietic cell transplantation from HLA-matched related donors. *Blood.* 2004; 104: 1550–1558
- 72) Dickout WJ, Chan CK, Hyland RH. Prevention of acute pulmonary edema after bone marrow transplantation. *Chest* 1987; 92: 303–309.
- 73) DiMaggio JR, Brown R, Baile WF, et al: Hallucinations and ifosfamide-induced neurotoxicity. *Cancer.* 1994; 73: 1509-1514.
- 74) Ditschkowski M, Elmaagacli AH, Trenschel R, et al. T-cell depletion prevents from bronchiolitis obliterans and bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with related donors. *Haematologica.* 2007; 92: 558-561.
- 75) Dua A, Zeigler ZR, Shaddock RK, Nath R, Andrews DF III, Agha M. Apheresis in grade 4 bone marrow transplant associated thrombotic microangiopathy: a case series. *J Clin Apheresis.* 1996; 11: 176-184.

- 76) Dykewicz CA. Summary of the Guidelines for Preventing Opportunistic Infections among Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 139–144.
- 77) Eapen M, Rocha V, Sanz G, et al. Effect of graft source on unrelated donor haemopoietic stem-cell transplantation in adults with acute leukaemia: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2010; 11 (7): 653-656.
- 78) Ellis MJ, Parikh CR, Inrig JK, Kanbay M, Patel UD. Chronic kidney disease after hematopoietic cell transplantation: a systematic review. *Am J Transplant* 2008; 8: 2378– 2390.
- 79) Ellison CA, Bradley DS, Fischer JM et al. Murine graft-versus-host disease induced using interferon-gamma-deficient grafts features antibodies to double-stranded DNA, T helper 2-type cytokines and hypereosinophilia. *Immunology*. 2002; 105 (1): 63-72.
- 80) Elmaagacli AH, Beelen DW, Trenn G, et al. Induction of a graft-versus-leukemia reaction by cyclosporin A withdrawal as immunotherapy for leukemia relapsing after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1999; 23: 771.
- 81) Fadia A, Casserly LF, Sancherawala V, Seldin DC, Wright DG, Skinner M et al. Incidence and outcome of acute renal failure complicating autologous stem cell transplantation for AL amyloidosis. *Kidney Int*. 2003; 63: 1868–1873.
- 82) Fann JR, Burington B, Roth-Roemer S, Syrjala K. Delirium and affective and cognitive outcomes in patients undergoing stem cell transplantation. *Annals of Behavioral Medicine*. 2001; 23 (suppl):S064.
- 83) Fann JR, Roth-Roemer S, Burington BE, Katon WJ, Syrjala KL. Delirium in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: incidence and pretransplant risk factors. *Cancer*. 2002; 95:1971-1981.
- 84) Farina L, Bruno B, Patriarca F, et al. The hematopoietic cell transplantation comorbidity index (HCT-CI) predicts clinical outcomes in lymphoma and myeloma patients after reduced-intensity or non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. 2009; 23: 1131-1138
- 85) Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009; 373 (9674): 1550-1561.
- 86) 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: 945–956.
- 87) Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martínez-Brú C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR--history, indications, and future research. *Clin Biochem*. 2005; 38 (1): 1-8.
 - 88) Flomenberg P, Babbitt J, Drobyski WR et al. Increasing incidence of adenovirus disease in bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis*. 1994; 169 (4): 775–781.
 - 89) Freise CE, Rowley H, Lake J, et al: Similar clinical presentation of neurotoxicity following FK 506 and cyclosporine in a liver transplant recipient. *Transplant Proc*. 1991; 23: 3173-3174.
 - 90) Freudenberg TD, Madtes DK, Curtis JR, et al. Association between acute and chronic graft-versus-host disease and bronchiolitis obliterans organizing pneumonia in recipients of hematopoietic stem cell transplants. *Blood*. 2003; 102: 3822-3828.
 - 91) Fuge R, Bird JM, Fraser A, et al. The clinical features, risk factors and outcome of thrombotic thrombocytopenic purpura occurring after bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. 2001; 113: 58-64.
 - 92) Fukuda T, Boeckh M, Carter RA et al. Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning. *Blood*. 2003; 102: 827–833.
 - 93) Fukuda T, Hackman RC, Guthrie KA et al. Risks and outcomes of idiopathic pneumonia syndrome after nonmyeloablative and conventional conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2003; 102 (8): 2777-2785.
 - 94) Gale RP, Horowitz MM, Ash RC, et al. Identical-twin bone marrow transplants for leukemia. *Ann Intern Med*. 1994; 120: 646.
 - 95) Gallardo D, Ferrà C, Berlanga JJ, et al. Neurologic complications after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1996; 18: 1135-1139.
 - 96) Gallo GR, Neugarten J, Baldwin DS. Glomerulonephritis associated with systemic bacterial and viral infections. En: Tisher CC, Brenner BM (Ed.). *Renal pathology with clinical and functional correlations*. J.B. Lippincot, Philadelphia 1989; 548-74.
 - 97) García-Cadenas I, Valcarcel D, Martino R, Piñana JL, Barba P, Novelli S, Esquirol A, Garrido A, Saavedra S, Granell M, Moreno C, Briones J, Brunet S, Sierra J. Impact of

- cyclosporine levels on the development of acute graft versus host disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Mediators Inflamm.* 2014; ID 620682: 7 pages.
- 98) Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis.* 2008; 47 (8): 1041-1050.
 - 99) Garrick R. Neurological complications. In: K Atkinson et al. (Eds.), *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation*. Cambridge University Press, Cambridge. 2000; pp. 958–979.
 - 100) George B, Pati N, Gilroy N, et al. Pre-transplant cytomegalovirus (CMV) serostatus remains the most important determinant of CMV reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the era of surveillance and preemptive therapy. *Transpl Infect Dis.* 2010; 12: 322–329.
 - 101) Gerard SK, Khayam-Bashi M. Characterization of creatinine error in ketotic patients. A prospective comparison of alkaline picrate methods with an enzymatic method. *Am J Clin Pathol.* 1985;84:659-64.
 - 102) Ghalie R, Szidon JP, Thompson L et al. Evaluation of pulmonary complications after bone marrow transplantation: the role of pretransplant pulmonary function tests. *Bone Marrow Transplant.* 1992; 10: 359–365.
 - 103) Gijtenbeek JM, van den Bent MJ, Vecht CJ. Cyclosporine neurotoxicity: a review. *J Neurol.* 1999; 246: 339-346.
 - 104) Giralt S, Estey E, Albitar M, et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myelablative therapy. *Blood.* 1997; 89: 4531-4536.
 - 105) Giralt S, Thall PF, Khouri I, Wang X, Brauschweig I, Ippolitti C et al. Melphalan and purine analog-containing preparative regimens: reduced intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Blood.* 2001; 97: 631–637.
 - 106) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989; 321 (17): 1174-1178.

- 107) Goldberg SL, Klumpp TR, Magdalinski AJ, Mangan KF. Value of the pretransplant evaluation in predicting toxic day-100 mortality among blood stem-cell and bone marrow transplant recipients. *J Clin Oncol*. 1998; 16: 3796–3802.
- 108) Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2010; 363 (22): 2091-2101.
- 109) Gore EM, Lawton CA, Ash RC et al. Pulmonary function changes in long-term survivors of bone marrow transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996; 36 (1): 67-75.
- 110) Grañena A, Carreras E, Rozman C, et al. Interstitial pneumonitis after BMT: 15 years' experience in a single institution. *Bone Marrow Transplant*. 1993; 11: 453-458.
- 111) Grassino A, Fracchia C, Rampulla C, Zocchi L. Respiratory muscles in Chronic obstructive pulmonary disease. Springer Verlag, Berlin Heidelberg GmbH 1988.
- 112) Gratwohl A, Hermans J, Goldman JM, et al. Risk assessment for patients with chronic myeloid leukaemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet*. 1998; 352: 1087-1092.
- 113) Green ML, Leisenring W, Stachel Det al. Efficacy of a viral load-based, risk-adapted, preemptive treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease after hematopoietic cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2012; 18 (11): 1687-1699.
- 114) Groth T, Tengstrom B. The usefulness of 125I-sodium iothalamate as a GFR-indicator in single intravenous injection tests. *Ups J Med Sci*. 1978; 83:53-63.
- 115) Grow WB, Moreb JS, Roque D, et al. Late onset of invasive aspergillus infection in bone marrow transplant patients at a university hospital. *Bone Marrow Transplant*. 2002; 29 (1): 15–19.
- 116) Hahn T, Rondeau C, Shaukat A, Jupudy V, Miller A, Alam AR et al. Acute renal failure requiring dialysis after allogeneic blood and marrow transplantation identifies very poor prognosis patients. *Bone Marrow Transplant*. 2003; 32: 405–410.
- 117) Hamilton PJ, Pearson ADJ. Bone marrow transplantation and the lung. *Thorax* 1986; 41: 497–502.

- 118) Han CS, Miller W, Haake R & Weisdorf D. Varicella zoster infection after bone marrow transplantation: incidence, risk factors and complications. *Bone Marrow Transplant.* 1994; 13: 277–283.
- 119) Hasejima N, Yamato K, Takezawa S, Kobayashi H, Kadoyama C. Invasive pulmonary aspergillosis associated with influenza B. *Respirology.* 2005; 10: 116-119.
- 120) Hermann S, Klein SA, Jacobi V, Thalhammer A, Bialleck H, Duchscherer M et al. Older patients with high-risk fungal infections can be successfully allografted using nonmyeloablative conditioning in combination with intensified supportive care regimens. *Br J Haematol.* 2001; 113: 446–454.
- 121) Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G et al. Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: use of thin-section CT. *AJR Am J Roentgenol.* 1997; 169: 1347–1353.
- 122) 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.
- 123) Hinchey J, Chaves C, Appignani B, et al: A reversible posterior leukoencephalopathy syndrome. *N Engl J Med.* 1996; 334: 494-500.
- 124) Hingorani S, Chronic kidney disease in long-term survivors of hematopoietic cell transplantation: epidemiology, pathogenesis, and treatment, *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 1995–2005.
- 125) Hingorani S, Guthrie K, Schoch G, McDonald G. Risk factors for chronic kidney disease after hematopoietic cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005; 11: Suppl 1:72–3.
- 126) Hingorani S, Guthrie KA, Schoch G, Weiss NS, McDonald GB. Chronic kidney disease in long-term survivors of hematopoietic cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39: 223–9.
- 127) Hingorani SR, Guthrie K, Batchelder A, Schoch G, Aboulhosn N, Manchion J et al. Acute renal failure after myeloablative hematopoietic cell transplant: incidence and risk factors. *Kidney Int* 2005; 67: 272–277.
- 128) Hirsch HH, Martino R, Ward KN et al. Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis and treatment of human respiratory

- syncytial virus, parainfluenza virus, metapneumovirus, rhinovirus, and coronavirus. *Clin Infect Dis*. 2013; 56 : 258-266.
- 129) Hitoshi Nakashima. Membranous nephropathy is developed under Th2 environment in chronic graft-versus-host disease, *Med. Hypotheses*. 2007; 69: 787–791.
 - 130) Ho VT, Cutler C, Carter S, Martin P, Adams R, Horowitz M, et al. Blood and marrow transplant clinical trials network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005; 11:571-5.
 - 131) Hogan WJ, Maris M, Storer B, Sandmaier BM, Maloney DG, Schoch HG, Woolfrey AE, Shulman HM, Storb R, McDonald GB. Hepatic injury after nonmyeloablative conditioning followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation: a study of 193 patients. *Blood*. 2004; 103 (1):78-84.
 - 132) Holland HK, Wingard JR, Beschoner WE, Saral R, Santos GW. Bronchiolitis obliterans in bone marrow transplantation and its relationship to chronic graft-v-host disease and low serum IgG. *Blood*. 1988; 72: 621–627.
 - 133) Hosing C, Nash R, McSweeney P, Mineishi S, Seibold J, Griffith LM et al. Acute kidney injury in patients with systemic sclerosis participating in hematopoietic cell transplantation trials in the United States. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17 (5): 674-81.
 - 134) Hows JM, Chipping PM, Fairhead S, Smith J, Baughan A, Gordon-Smith EC. Nephrotoxicity in bone marrow transplant recipients treated with cyclosporin A. *Br J Haematol*. 1983; 54: 69–78.
 - 135) Hulzebos EH, Helders PJ, Favié NJ et al. Preoperative intensive inspiratory muscle training to prevent postoperative pulmonary complications in high-risk patients undergoing CABG surgery: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2006; 296: 1851-1857.
 - 136) Humphreys BD, Soiffer RJ, Magee CC. Renal failure associated with cancer and its treatment: an update. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16 (1): 151-161.
 - 137) Iacobone E, Bailly-Salin J, Polito A et al. Sepsis associated encephalopathy and its differential diagnosis. *Crit Care Med*. 2009; 37 (Suppl): S331–S336.
 - 138) Iacopino P, Pucci G, Arcese W, et al. Severe thrombotic microangiopathy: an infrequent complication of bone marrow transplantation. Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Bone Marrow Transplant*. 1999; 24: 47-51.

- 139) Ishani A, Xue JL, Himmelfarb J, Eggers PW, Kimmel PL, Molitoris BA et al. Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20: 223–228.
- 140) Jagenburg R, Attman PO, Aurell M, Bucht H. Determination of glomerular filtration rate in advanced renal insufficiency. *Scand J Urol Nephrol.* 1978; 12: 133-7.
- 141) Jantunen E, Nihtinen A, Anttila VJ. Changing landscape of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2008; 10: 156–161.
- 142) Jodele S, Laskin B, Fukuda T, Vinks A, Mizuno K, Goebel J et al. Eculizumab Treatment Improves Survival in Patients with High-Risk Hematopoietic Stem Cell Transplant (HSCT)-Associated Thrombotic Microangiopathy (TMA) *Biology of Blood and Marrow Transplant.* 2015; 21(2): S225 - S226.
- 143) Kanamori H, Maruta A, Sasaki S, Yamazaki E, Ueda S, Katoh K, Tamura T, et al. Diagnostic value of hemostatic parameters in bone marrow transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 21 (7): 705-709.
- 144) Kang JM, Kim YJ, Kim JY, Cho EJ, Lee JH, Lee MH et al. Neurologic complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children: analysis of prognostic factors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015 Jun;21(6):1091-8.
- 145) Kausman JY, Kitching AR. A new approach to idiopathic nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18 (10): 2621-2.
- 146) Kennedy MS, Deeg HJ, Siegel M, Crowley JJ, Storb R, Thomas ED. Acute renal toxicity with combined use of amphotericin B and cyclosporine after marrow transplantation. *Transplantation.* 1983; 35: 211–5.19.
- 147) Kersting S, Dorp SV, Theobald M, Verdonck LF. Acute renal failure after nonmyeloablative stem cell transplantation in adults. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 125–131.
- 148) Kersting S, Koomans HA, Hene RJ, Verdonck LF. Acute renal failure after allogeneic myeloablative stem cell transplantation: retrospective analysis of incidence, risk factors and survival. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39 (6): 359-65.
- 149) Kersting S, Verdonck LF. Successful outcome after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with renal dysfunction. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008; 14 (11): 1312-6.

- 150) Khouri IF, Keating M, Korbling M, et al. induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor- cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2817–2824.
- 151) Khouri IF, McLaughlin P, Saliba RM, et al. Eight-year experience with allogeneic stem cell transplantation for relapsed follicular lymphoma after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab. *Blood* 2008; 111 (12): 5530-6.
- 152) Khouri IF, Saliba RM, Erwin WD, et al. Nonmyeloablative allogeneic transplantation with or without 90yttrium ibritumomab tiuxetan is potentially curative for relapsed follicular lymphoma: 12-year results. *Blood* 2012; 119 (26): 6373-6378.
- 153) Knudsen LM, Nielsen B, Gimsing P, Geisler C. Autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: outcome in patients with renal failure. *European Journal of Haematology* 2005; 75:27-33.
- 154) Koc Y, Miller KB, Schenkein DP et al. Varicella zoster virus infections following allogeneic bone marrow transplantation: frequency, risk factors, and clinical outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; 6: 44–49.
- 155) Kochi S, Takanaga H, Matsuo H, et al: Induction of apoptosis in mouse brain capillary endothelial cells by cyclosporin A and tacrolimus. *Life Sci.* 2000; 66: 2255-2260.
- 156) Kojouri K, George JN. Thrombotic microangiopathy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Oncol.* 2007; 19 (2): 148-154.
- 157) Konoplev S, Champlin RE, Giralt S et al. Cytomegalovirus pneumonia in adult autologous blood and marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 877–881.
- 158) Kottaridis PD, Milligan DW, Chopra R, et al. In vivo CAMPATH-1H prevents graft-versus-host disease follow- ing nonmyeloablative stem cell transplantation. *Blood.* 2000; 96: 2419–2425.
- 159) Krowka MJ, Rosenow EC, Hoagland HC. Pulmonary complications in bone marrow transplantation. *Chest* 1985; 87: 237–246.
- 160) Labonté L, Iqbal T, Zaidi MA, et al. Utility of comorbidity assessment in predicting transplantation-related toxicity following autologous hematopoietic stem cell

- transplantation for multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14:1039-1044
- 161) Laskin BL, Goebel J, Davies SM, Jodele S. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood*. 2011; 118(6):1452-1462.
 - 162) Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P et al. Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med*. 2004; 351 (22): 2265-2275.
 - 163) Lawton CA, Cohen EP, Murray KJ. Long-term results of selective renal shielding in patients undergoing total body irradiation in preparation for bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20: 1069–1074.
 - 164) Lee CK, Gingrich RD, Hohl RJ et al. Engraftment syndrome in autologous bone marrow and peripheral stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1995; 16 (1): 175-182.
 - 165) Lee HG, Park BB, Peck KR, et al. Pulmonary complications after hematopoietic stem cell transplantation. *J Korean Med Sci* 2006; 21: 406–411.
 - 166) Leff RS, Thompson JM, Daly MB, et al: Acute neurologic dysfunction after high-dose etoposide therapy for malignant glioma. *Cancer*. 1988; 62: 32-35.
 - 167) Lemann J, Bidani AK, Bain RP, Lewis EJ, Rohde RD. Use of the serum creatinine to estimate glomerular filtration rate in health and early diabetic nephropathy. Collaborative Study Group of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition in Diabetic Nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1990; 16: 236-243.
 - 168) Leung W, Ahn H, Rose SR, et al. A prospective cohort study of late sequelae of pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Medicine (Baltimore)*. 2007; 86: 215–224.
 - 169) Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999; 130 (6): 461-70.
 - 170) Levey AS, Greene T, Kusek J, Beck GJ, Group MS. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine. *J Am Soc Nephrol*. 2000; 11: AO 828.

- 171) Lewis ID, Defor T, Weisdorf DJ. Increasing incidence of diffuse alveolar hemorrhage following allogeneic bone marrow transplantation: cryptic etiology and uncertain therapy. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 539-543.
- 172) Lewis VA, Champlin R, Englund J et al: Respiratory disease due to parainfluenza virus in adult bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 1996; 23 (5): 1033–1037.
- 173) Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc* 1985; 33: 278–285.
- 174) Liu H, Ding J-H, Lu B-C, Zhao G, Chen B-A. Early renal injury after nonmyeloablative alloegenic peripheral blood stem cell transplantation in patients with chronic myelocytic leukemia. *Am J Nephrol* 2007; 27: 336–341.
- 175) Liu H, Li Y-F, Liu B-C, Ding J-H, Chen B-A, Xu W-L, Qian J. A multicenter, retrospective study of acute kidney injury in dult patients with nonmyeloablative hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 153–158.
- 176) Llamas P, Romero R, Cabrera R, Sanjuan I, Fores R, Fernandez MN. Management of thrombotic microangiopathy following allogeneic transplantation: what is the role of plasma exchange? *Bone Marrow Transplant.* 1997; 20: 305-306.
- 177) Lo LJ, Go AS, Chertow GM, McCulloch CE, Fan D, Ordoñez JD et al. Dialysis-requiring acute renal failure increases the risk of progressive chronic kidney disease. *Kidney Int* 2009; 76: 893–899.
- 178) Locksley RM, Flournoy N, Sullivan KM, Meyers JD. Infection with varicella-zoster virus after marrow transplantation. *J Infect Dis* 1985; 152: 1172–1181.
- 179) Lopes JA, Gonc, alves S, Jorge S, Raimundo M, Resende L, Lourenço F et al. Contemporary analysis of the influence of the acute kidney injury after reduced intensity conditioning haematopoietic cell transplantation on long-term survival. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 619–626.
- 180) Lopes JA, Jorge S, Gonc, alves S, Resina C, Silva S, de Almeida E et al. Contemporary analysis of the influence of acute kidney injury (AKI) after myeloablative hematopoietic cell transplantation on long-term patient’s survival. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 139–141.

- 181) Lopes JA, Jorge S, Silva S, de Almeida E, Abreu F, Martins C et al. Acute renal failure following myeloablative autologous and allogeneic haematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38: 707.
- 182) Lopes JA, Jorge S. Acute kidney injury following HCT: incidence, risk factors and outcome. *Bone Marrow Transplant*. 2011; 46 (11): 1399-408.
- 183) Lossos IS, Breuer R, Or R et al. Bacterial pneumonia in recipients of bone marrow transplantation: a five-year prospective study. *Transplantation* 1995; 60: 672–678.
- 184) Lowsky R, Takahashi T, Liu YP, et al. Protective conditioning for acute graft versus host disease. *New Eng J Med* 2005; 353: 1321-1331
- 185) Lucena CM, Torres A, Rovira M et al. Pulmonary complications in hematopoietic SCT: a prospective study. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Jul 21. doi: 10.1038/bmt.2014.151.
- 186) Luo XD, Liu QF, Zhang Y, Sun J, Wang GB, Fan ZP, Yi ZS, Ling YW, Wei YQ, Liu XL, Xu B. Nephrotic syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: etiology and pathogenesis. *Blood Cells Mol Dis*. 2011; 46 (2): 182-7.
- 187) Machado CM, Dulley FL, Boas LS et al. CMV pneumonia in allogeneic BMT recipients undergoing early treatment of pre-emptive ganciclovir therapy. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 413–417.
- 188) Maiolino A, Biasoli I, Lima J et al. Engraftment syndrome following autologous hematopoietic stem cell transplantation: definition of diagnostic criteria. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 393–397.
- 189) Majhail NS, Brunstein CG, McAvoy S et al. Does the Hematopoietic Cell Transplantation Specific Comorbidity Index Predict Transplant Outcomes? A Validation Study in a Large Cohort of Umbilical Cord Blood and Matched Related Donor Transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14 (9): 985-992.
- 190) Mali B, Nicholas PC. Jaffe's reaction for creatinine: kinetic study and spectrophometric characteristics of the product of the reactions of creatinine, acetoacetate and creatinine and acetoacetate with alkaline picrate. *Biochem Soc Trans*. 1988; 16: 549-550.
- 191) Mandel J, Mark EJ, Hales CA. Pulmonary veno-occlusive disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1964–1973.

- 192) Maris M, Sandmaier BM, Maloney DG, McSweeney PA, Woolfrey A, Chauncey T et al. Nonmyeloablative haematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Clin Biol* 2001; 8: 231–234.
- 193) Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* 2002; 100 (13): 4358–4366.
- 194) Marr KA, Carter RA, Crippa F et al. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2002; 34 (7): 909-917.
- 195) Martinez AJ. The neuropathology of organ transplantation: comparison and contrast in 500 patients. *Pathol Res Pract*. 1998; 194: 473-486.
- 196) Martino R, Bretagne S, Einsele H, Maertens J, Ullmann AJ, Parody R, et al. Early detection of *Toxoplasma* infection by molecular monitoring of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood samples after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2005; 40 (1): 67-78.
- 197) Martino R, Iacobelli S, Brand R, et al. 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.
- 198) Martino R, Maertens J, Bretagne S, Rovira M, Deconinck E, Ullmann AJ, Held T, Cordonnier C. Toxoplasmosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clin Infect Dis*. 2000; 31 (5): 1188-1194.
- 199) Martino R, Porrás RP, Rabella N et al. Prospective study of the incidence, clinical features, and outcome of symptomatic upper and lower respiratory tract infections by respiratory viruses in adult recipients of hematopoietic stem cell transplants for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11 (10): 781-796.
- 200) Martino R, Subira M, Rovira M, Solano C, Vazquez L, Sanz GF et al. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients. *Br J Haematol* 2002; 116: 475–482.
- 201) Martino R, Subira M. Invasive fungal infections in hematology: new trends. *Ann Hematol* 2002; 81: 233–243.

- 202) Marty FM, Ljungman P, Papanicolaou GA, et al. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogeneic stem-cell transplants: a phase 3, double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11: 284–292
- 203) Mascioli SR, Bantle JP, Freier EF, Hoogwerf BJ. Artifactual elevation of serum creatinine level due to fasting. *Arch Intern Med*. 1984; 144: 1575-1576.
- 204) Mathew RM, Rosenfeld MR. Neurologic complications of bone marrow and stem-cell transplantation in patients with cancer. *Curr Treat Options Neurol*. 2007; 9: 308-314.
- 205) Matute-Bello G, McDonald GD, Hinds MS et al. Association of pulmonary function testing abnormalities and severe venoocclusive disease of the liver after marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 1125–1130.
- 206) McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD, Schoch HG, Wolford JL, Banaji M, Hardin BJ, Shulman HM, Clift RA. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med*. 1993; 118 (4): 255-67.
- 207) McDonald JW, Goldberg MP, Gwag BJ, Chi SI, Choi DW. Cyclosporine induces neuronal apoptosis and selective oligodendrocyte death in cortical cultures. *Ann Neurol*. 1996; 40 (5): 750-8.
- 208) McDonald S, Rubin P, Phillips TL et al. Injury to the lung from cancer therapy: clinical syndromes, measurable endpoints, and potential scoring systems. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995; 31 (5): 1187-1203.
- 209) Mechanic SA, Krause D, Kroschinsky F, et al, mobilization and collection of peripheral blood progenitors cells. McLeod BC, Price TH, Weinstein R, eds, *Apheresis: Principles and practice*, 2nd ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2003.
- 210) Metcalf JP, Rennard SI, Reed EC et al. Corticosteroids as adjunctive therapy for diffuse alveolar hemorrhage associated with bone marrow transplantation. University of Nebraska Medical Center Bone Marrow Transplant Group. *Am J Med*. 1994; 96 (4): 327-334.
- 211) Meyers JD, Pifer LL, Sale GE, Thomas ED. The value of *Pneumocystis carinii* antibody and antigen detection for diagnosis of pneumocystis carinii pneumonia after marrow transplantation. *Am Rev Respir Dis* 1979; 120: 1283–1287.

- 212) Mihiu CN, King E, Yossepovitch O, Taur Y, Jakubowski A, Pamer E et al. Risk factors and attributable mortality of late aspergillosis after T-cell depleted hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2008; 10: 162–167.
- 213) Milano F, Campbell AP, Guthrie KA et al. Human rhinovirus and coronavirus detection among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Blood*. 2010; 115 (10): 2088-2094.
- 214) Mitch WE, Collier VU, Walser M. Creatinine metabolism in chronic renal failure. *Clin Sci Lond*. 1980; 58 (4): 327-35.
- 215) Mohrmann RL, Mah V, Vinters HV: Neuropathologic findings after bone marrow transplantation: An autopsy study. *Hum Pathol*. 1990; 21: 630- 639.
- 216) Morgasen JL. Myoglobinuria and renal failure associated with influenza. *Ann Intern. Med* 1974; 80: 362-3.
- 217) Moudgil A, Nast C, Bagga A et al. Association of parvovirus B19 infection with idiopathic collapsing glomerulopathy. *Kidney Int* 2001; 59: 2126-33.
- 218) Mylonakis D, Goes N, Rubin RH, Cosimi AB, Colvin RB, Fishman JA. BK virus in solid organ transplant recipients: an emerging syndrome. *Transplantation*. 2001; 72 (10): 1587-1592.
- 219) Nagler A, Aker M, Or R, et al. Low-intensity conditioning is sufficient to ensure engraftment in matched unrelated bone marrow transplantation. *Experimental hematology* 2001; 29 (3): 362-370.
- 220) Nakamae H, Yamane T, Hasegawa T, et al. Risk factor analysis for thrombotic microangiopathy after reduced intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 2006; 81 (7): 525-531.
- 221) National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*. 2002; 39: S66-S70.
- 222) Nestel FP, Price KS, Seemayer TA, Lapp WS. Macrophage priming and lipopolysaccharide-triggered release of tumor necrosis factor alpha during graft-versus-host disease. *J Exp Med*. 1992; 175 (2): 405-413.
- 223) Nguyen Q, Champlin R, Giralt S et al. Late cytomegalovirus pneumonia in adult allogeneic blood and marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 618–623.

- 224) Nichols WG, Gooley T, Boeckh M: Community-acquired respiratory syncytial virus and parainfluenza virus infections after hematopoietic stem cell transplantation: the Fred Hutchinson Cancer Research Center experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7 (Suppl): 11S–15S.
- 225) Nichols WG, Guthrie KA, Corey L, Boeckh M. Influenza infections after hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, mortality, and the effect of antiviral therapy. *Clin Infect Dis* 2004; 39 (9): 1300–1306.
- 226) Niederwieser D, Maris M, Shizuru JA, Petersdorf E, Hegenbart U, Sandmaier BM et al. Low-dose total body irradiation (TBI) and fludarabine followed by haematopoietic cell transplantation (HCT) from HLA-matched or mismatched unrelated donors and postgrafting immunosuppression with cyclosporine and mycophenolate mofetil (MMF) can induce durable complete chimerism and sustained remissions in patients with haematologic diseases. *Blood* 2003; 101: 1620–1629.
- 227) Nivoix Y, Velten M, Letscher-Bru V et al. Factors associated with overall and attributable mortality in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1176–1184.
- 228) Openshaw H, Slatkin NE. In: ED Thomas, KG Blume, SJ Foreman (Eds.), *Hematopoietic Cell transplantation*. 2nd edn. Blackwell Science, Malden, MA, (1999) pp. 659–673.
- 229) Pagano L, Caira M, Candoni A et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* 2006; 91 (8): 1068-1075.
- 230) Papadopoulos MC, Davies DC, Moss RF et al. Pathophysiology of septic encephalopathy: a review. *Crit Care Med*. 2000; 28: 3019–3024.
- 231) Paquette R, Tebyani N, Frane M, et al. Long-term outcome of aplastic anemia in adults treated with antithymocyte globulin: comparison with bone marrow transplantation. *Blood*. 1995; 85: 283-290.
- 232) Parikh CR, McSweeney PA, Korular D, Ecker T, Merouani A, Taylor J et al. Renal dysfunction in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Kidney Int* 2002; 62: 566–573.
- 233) Parikh CR, Sandmaier BM, Storb RF et al. Acute Renal Failure after Nonmyeloablative Hematopoietic Cell Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1868-1876.

- 234) Parikh CR, Schrier RW, Storer B, Diaconescu R, Sorrow ML, Maris MB et al. Comparison of ARF after myeloablative and nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 502–509.
- 235) Parikh CR, Yarlagadda SG, Storer B, Sorrow M, Storb R, Sandmaier B. Impact of acute kidney injury on long-term mortality after nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 309–315.
- 236) Parimon T, Au DH, Martin PJ et al. A risk score for mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Ann Intern Med.* 2006; 144 (6): 407-414.
- 237) Parimon T, Madtes DK, Au DH et al. Pretransplant lung function, respiratory failure, and mortality after stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 384-390.
- 238) Parra T, de Arriba G, Conejo JR, Cantero M, Arribas I, Rodríguez-Puyol D, Rodríguez-et al. Cyclosporine increases local glomerular synthesis of reactive oxygen species in rats: effect of vitamin E on cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation.* 1998; 66(10): 1325-9.
- 239) Parsons SK, Neault MW, Lehmann LE, et al: Severe ototoxicity following carboplatin-containing conditioning regimen for autologous marrow transplantation for neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22: 669-674.
- 240) Parving HH, Tarnow L, Nielsen FS, et al. Cyclosporine nephrotoxicity in type 1 diabetic patients. A 7-year follow-up study. *Diabetes Care.* 1999; 22: 478-483.
- 241) Pasquini MC, Wang Z. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides, 2012.
- 242) Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A, et al. The EBMT activity survey: 1990-2010. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47 (7): 906-923.
- 243) Patel SR, Ortin M, Cohen BJ, et al. Revaccination with mea-sles, tetanus, poliovirus, Haemophilus influenzae type B, meningococcus C, and pneumococcus vaccines in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2007; 44: 625-634.
- 244) Patriarca F, Skert C, Bonifazi F, et al. Effect on survival of the development of late-onset non-infectious pulmonary complications after stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91: 1268–1272.

- 245) Patriarca F, Skert C, Sperotto A, et al. The development of autoantibodies after allogeneic stem cell transplantation is related with chronic graft-vs-host disease and immune recovery. *Exp Hematol.* 2006 ; 34 (3): 389-396.
- 246) Peck AJ, Englund JA, Kuypers J et al. Respiratory virus infection among hematopoietic cell transplant recipients: evidence for asymptomatic parainfluenza virus infection. *Blood* 2007; 110 (5): 1681-1688.
- 247) Pelgrims J, De Vos F, Van den BJ, et al: Methylene blue in the treatment and prevention of ifosfamide-induced encephalopathy: Report of 12 cases and a review of the literature. *Br J Cancer.* 2000; 82: 291-294.
- 248) Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *European Respiratory Journal*, 2005; 26 (5): 948-968.
- 249) Pérez-Arellano JL & De Castro S. *Manual de patología general.* Ed Masson Eselvier. Barcelona, 2006.
- 250) Perreault C, BClanger R, Gyger M, et al: The mechanism of graft-host-tolerance in murine radiation chimeras transplanted across minor histocompatibility barriers. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4: 83-87.
- 251) Perrone RD, Steinman TI, Beck GJ, Skibinski CI, Royal HD, Lawlor M, et al. Utility of radioisotopic filtration markers in chronic renal insufficiency: simultaneous comparison of 125I-iothalamate, 169Yb-DTPA, 99mTc-DTPA, and inulin. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Am J Kidney Dis.* 1990; 16: 224-35.
- 252) Pettitt AR, Clark RE. Thrombotic microangiopathy following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1994; 14: 495-504.
- 253) Piguet PF, Grau GE, Allet B, Vassalli P. Tumor necrosis factor/cachectin is an effector of skin and gut lesions of the acute phase of graft-vs.-host disease. *J Exp Med.* 1987; 166 (5): 1280-1289.
- 254) Piñana JL, Valcárcel D, Fernández-Avilés F, Martino R, Rovira M, Barba P, Martínez C, Brunet S, Sureda A, Carreras E, Sierra J. MTX or mycophenolate mofetil with CsA as GVHD prophylaxis after reduced-intensity conditioning PBSCT from HLA-identical siblings. *Bone Marrow Transplant.* 2010 Sep;45(9):1449-56.
- 255) Pogliani EM, Perseghin P, Parma M, Pioltelli P. & Corneo, G. Defibrotide in recurrent thrombotic thrombocytopenic purpura. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2000; 6: 69–70.

- 256) Pratt CB, Goren MP, Meyer WH, et al: Ifosfamide neurotoxicity is related to previous cisplatin treatment for pediatric solid tumors. *J Clin Oncol.* 1990; 8:1399-1401.
- 257) Qiu J, Tu Z, Shi Y, et al. Interference of cyclosporine on glucose metabolism: potential role in chronic transplantation kidney fibrosis. *Transplant Proc.* 2006; 38: 2065-2068.
- 258) Quanjer PH, Tammeling GJ, Pederson OF, Peslin R, Yernault JC: Report working party standardization of lung function tests European Community for Steel and Coal. Official statement of the European Respiratory Society. Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur Respir J* 1993; 6: 5-40.
- 259) Ramos ER, Jiang Y, Hachem R, et al. Outcome analysis of invasive aspergillosis in hematologic malignancy and hematopoietic stem cell transplant patients: the role of novel antimold azoles. *The oncologist* 2011; 16 (7): 1049-1060.
- 260) Rao PS. Nephrotic syndrome in patients with peripheral blood stem cell transplant. *Am J Kidney Dis.* 2005; 45 (4): 780-5.
- 261) Reddy P, Johnson K, Uberti JP, Reynolds C, Silver S, Ayash L, Braun TM, Ratanatharathorn V. Nephrotic syndrome associated with chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 38 (5): 351-7.
- 262) Reece DE, Frei-Lahr DA, Shepherd JD, et al: Neurologic complications in allogeneic bone marrow transplant patients receiving cyclosporin. *Bone Marrow Transplant.* 1991; 8: 393-401.
- 263) Renaud C and Campbell AP. Changing epidemiology of respiratory viral infections in hematopoietic cell transplant recipients and solid organ transplant recipients. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2011; 24: 333-343.
- 264) Rigalleau V, Lasseur C, Perlemoine C, Barthe N, Raffaitin C, Chauveau P, et al. Cockcroft-Gault formula is biased by body weight in diabetic patients with renal impairment. *Metabolism.* 2006; 55:108-12.
- 265) Robbins RA, Linder J, Stahl MG et al. Diffuse alveolar hemorrhage in autologous bone marrow transplant recipients. *Am J Med.* 1989; 87 (5): 511-8.
- 266) Rocco MV, Buckalew VM Jr, Moore LC, Shihabi ZK. Measurement of glomerular filtration rate using nonradioactive Iohexol: comparison of two one-compartment models. *Am J Nephrol.* 1996; 16: 138-43.

- 267) Rodrigo Calabria, E. Medida de la función renal. *Nefrología* 2004; 24: 35-46.
- 268) Rodriguez T E. Neurologic complications of bone marrow transplantation. *Handbook of clinical neurology*. 2013; 121: 1295-1304.
- 269) Romagnani P, Lazzeri E, Mazzinghi B, Lasagni L, Guidi S, Bosi A, Cirami C, Salvadori M. Nephrotic syndrome and renal failure after allogeneic stem cell transplantation: novel molecular diagnostic tools for a challenging differential diagnosis. *Am J Kidney Dis*. 2005 Sep; 46(3):550-6.
- 270) Ronco P, Verroust P, Morel-Maroger L. Viruses and glomerulonephritis. *Nephron* 1982; 31: 97-102.
- 271) Rosenfeld MR, Pruitt A. Neurologic complications of bone marrow, stem cell, and organ transplantation in patients with cancer. In *Seminars in oncology*. 2006; 33 (3): 352-361.
- 272) Roy V, Rizvi MA, Vesely SK, George JN. Thrombotic thrombocytopenic purpura-like syndromes following bone marrow transplantation: an analysis of associated conditions and clinical outcomes. *Bone Marrow Transplant*. 2001; 27: 641-646.
- 273) Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ, Clark RE, George JN, Gratwohl A, et al; European Group for Blood and Marrow Transplantation; European LeukemiaNet. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica*. 2007; 92 (1): 95-100.
- 274) Ruutu T, Hermans J, Niederwieser D, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura after allogeneic stem cell transplantation: a survey of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol*. 2002; 118: 1112-1119.
- 275) Saito T, Kanda Y, Kami M, Kato K, Shoji N, Kanai S et al. Therapeutic potential of a reduced-intensity preparative regimen for allogeneic transplantation with cladribine, busulfan, and antithymocyte globulin against advanced/refractory acute leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1014–1020.
- 276) Sanchis J, Casan P, Castillo J, Gonzalez N, Palenciano L, Roca J: Normativa para la práctica de la espirometria forzada. *Arch Bronconeumol* 1989; 25: 132-142.
- 277) Santo Tomas LH, Loberiza FR Jr, Klein JP, et al. Risk factors for bronchiolitis obliterans in allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for leukemia. *Chest*. 2005; 128: 153–161.

- 278) Santos GW, Tutschka PJ, Brookmeyer R, et al. Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. *N Engl J Med.* 1983; 309 (22): 1347-1353.
- 279) Savani BN, Montero A, Srinivasan R et al. Chronic GVHD and pretransplantation abnormalities in pulmonary function are the main determinants predicting worsening pulmonary function in long-term survivors after stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006. 12, 1261-1269.
- 280) Schnabel FR, Wait RB, Kahng KU The relationship of urinary thromboxane excretion to cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation.* 1991; 51 (3): 686-9.
- 281) Schumann L, Wustenberg PW. An improved method to determine renal function using inulin and p-aminohippurate (PAH) steady-state kinetic modeling. *Clin Nephrol.* 1990; 33:35-40.
- 282) Schwarzer AP, Hughes JM, Trotman-Dickenson B et al. A chronic pulmonary syndrome associated with graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Transplantation* 1992; 54:1002–1008.
- 283) Seeber C, Hiller E, Holler E, Kolb HJ. Increased levels of tissue plasminogen activator (t-PA) and tissue plasminogen activator inhibitor (PAI) correlate with tumor necrosis factor alpha (TNF alpha)-release in patients suffering from microangiopathy following allogeneic bone marrow transplantation (BMT). *Thromb Res.* 1992; 66 (4): 373-83.
- 284) Seo S, Renaud C, Kuypers JM, Chiu CY, Huang ML, Samayoa E et al. Idiopathic pneumonia syndrome after hematopoietic cell transplantation: evidence of occult infectious etiologies. *Blood.* 2015; 125 (24): 3789-97.
- 285) Shah DP, Ghantaji SS, Mulanovich VE et al.). Management of respiratory viral infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Am J Blood Res* 2012; 2(4): 203-18.
- 286) Siegal D, Keller A, Xu W, et al. Central nervous system complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, manifestations, and clinical significance. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13: 1369-1379.
- 287) Sinton TJ, De Leacy EA, Cowley DM. Comparison of ⁵¹Cr EDTA clearance with formulae in the measurement of glomerular filtration rate. *Pathology.* 1986; 18 (4): 445-7.

- 288) Sirithanakul K, Salloum A, Klein JL et al. Pulmonary complications following hematopoietic stem cell transplantation: diagnostic approaches. *Am J hemtol* 2005; 80 (2): 137-146.
- 289) Sisson JH, Thompson AB, Anderson JR et al. Airway inflammation predicts diffuse alveolar hemorrhage during bone marrow transplantation in patients with Hodgkin's disease. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 439-443.
- 290) Slavin S, Nagler A, Naparstek E, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematological diseases. *Blood* 1998; 91: 756–763.
- 291) Smith SR, Kubacki VB, Rakhit A, Martin LL, Schaffer AV, Jasani MK, Hefty DJ, et al. Chronic thromboxane synthase inhibition with CGS 12970 in human cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation*. 1993; 56 (6): 1422-6.
- 292) Sorror ML, Giralt S, Sandmaier BM, et al. Hematopoietic cell transplantation specific comorbidity index as an outcome predictor for patients with acute myeloid leukemia in first remission: combined FHCRC and MDACC experiences. *Blood*. 2007; 110: 4606-4613.
- 293) Sorror ML, Maris MB, Storb R, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood*. 2005; 106: 2912-2919.
- 294) Sorror ML, Maris MB, Storer B, et al. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning: influence of pretransplant comorbidities. *Blood*. 2004; 104: 961-968.
- 295) Sostak P, Padovan CS, Yousry TA, et al. A prospective evaluation of neurological complications after allogeneic bone marrow transplantation. *Neurology*. 2003; 60:842-848.
- 296) Soubani AO, Miller KB, Hassoun PM. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Chest* 1996; 109: 1066–1077.
- 297) Spitzer TR, McAfee S, Sacktein, et al. Intentional induction of mixed chimerism and achievement of antitumor responses after nonmyeloablative conditioning therapy and

- HLA-matched bone marrow transplant for refractory hematologic malignancies. *Biol Blood and Marrow Transplant* 2000; 6: 309-320.
- 298) Spyronidis A, Bertz H Ihorst G, et al. Hematopoietic cell transplantation from unrelated donors as an effective therapy for older patients (>60 years) with active myeloid malignancies. *Blood*, 2005; 105:4147-4148.
- 299) Stem Cell Trialists' Collaborative Group. Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol* 2005; 23 (22): 5074-5087.
- 300) Storb R, Raff RF, Appelbaum FR, et al. Comparison of fractionated to single-dose total body irradiation in conditioning canine littermates for DLA-identical marrow grafts *Blood* 1989; 74 (3): 1139–1143.
- 301) Storb R, Thomas ED: Graft-versus-host disease in dog and man: The Seattle experience. *Immunol Rev* 1985; 88: 215.
- 302) Subira M, Martino R, Franquet T et al. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies: survival and prognostic factors. *Haematologica* 2002; 87: 528–534.
- 303) Sykes M, Preffer F, McAfee S, et al. Mixed lymphohaemopoietic chimerism and graft-versus-lymphoma effects after non-myeloablative therapy and HLA-mismatched bone-marrow transplantation. 1999; 353: 1755-1759
- 304) Takano K, Fuji S, Uchida N, Ogawa H, Ohashi K, Eto T et al. Pre-transplant diabetes mellitus is a risk factor for non-relapse mortality, especially infection-related mortality, after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50 (4): 553-8.
- 305) Thomas ED, Clift RA, Hersman J, et al. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission using fractionated or single-dose irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1982; 8 (5): 817-821.
- 306) 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.
- 307) Thomas O, Mahé MA, Campion L et al. Long-term complications of total body irradiation in adults. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49 (1): 125-131.

- 308) Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for Preventing Infectious Complications among Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: A Global Perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 1143-1238.
- 309) Uckan D, Cetin M, Yigitkanli I et al. Life-threatening neurological complications after bone marrow transplantation in children. *Bone Marrow Transplant*. 2005; 35: 71–76.
- 310) Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 531–540.
- 311) 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.
- 312) Valcárcel D, Martino R, Sureda A, et al. Conventional versus reduced-intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with hematological malignancies. *Eur J Haematol*. 2005; 74 (2): 144-151.
- 313) Vogelsang GB, Hess AD. Graft-versus-host disease: new directions for a persistent problem. *Blood* 1994; 84: 2061-2067.
- 314) Wald A, Leisenring W, van Burik JA, Bowden RA. Epidemiology of *Aspergillus* infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis* 1997; 175: 1459–1466.
- 315) Walker RW, Brochstein JA: Neurologic complications of immunosuppressive agents. *Neurol Clin*. 1988; 6: 261-278.
- 316) Weber C, Schaper J, Tibussek D, et al. Diagnostic and therapeutic implications of neurological complications following paediatric haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2008; 41: 253-259.
- 317) Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300: 1068-1073.
- 318) Weiden PL, Sullivan KM, Flournoy N, et al. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981; 304:1529-1533.
- 319) Weiner RS, Bortin MM, Gale RP, et al. Interstitial pneumonitis after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med*. 1986; 104 (2): 168-175.

- 320) Weiss AS, Sandmaier BM, Storer B, Storb R, McSweeney PA, Parikh CR. Chronic kidney disease following non-myeloablative hematopoietic cell transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 89–94.
- 321) Welniak LA, Blazar BR, Murphy WJ. Immunobiology of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 139-170.
- 322) Wesson L. *Physiology of the human kidney*. New York: Grune and Stratton; 1969.
- 323) Whimbey E, Englund JA and Couch RB. Community respiratory virus infections in immunocompromised patients with cancer. *The American Journal of Medicine* 1997; 102: 10-18.
- 324) White AC, Terrin N, Miller KB, Ryan HF: Impaired Respiratory and Skeletal Muscle Strength in Patients Prior to Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *Chest*. 2005; 128: 145-152.
- 325) Widemann BC, Adamson PC. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. *Oncologist*. 2006; 11:694-703.
- 326) Wildes TM, Augustin KM, Sempek D, et al. Comorbidities, not age, impact outcomes in autologous stem cell transplant for relapsed non-Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14: 840-846.
- 327) Willems E, Baron F, Seidel L, Frere P, Fillet G, Beguin Y. Comparison of thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic cell transplantation with high dose or nonmyeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45 (4): 689-693.
- 328) Wingard JR, Mellits ED, Sostrin MB, et al. Interstitial pneumonitis after allogeneic bone marrow transplantation: nine-year experience at a single institution. *Medicine*. 1988; 67: 175-186.
- 329) Worel N, Greinix HT, Keil F, Mitterbauer M, Lechner K, Fischer G et al. Severe immune hemolysis after minor ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation occurs more frequently after nonmyeloablative than myeloablative conditioning. *Transfusion*. 2002; 42 (10): 1293-301.
- 330) Wysocki CA, Panoskaltsis-Mortari A, Blazar BR, Serody JS. Leukocyte migration and graft-versus-host disease. *Blood*. 2005; 105 (11): 4191-4199
- 331) Xhaard A, Porcher R, Chien JW, et al. Impact of comorbidity indexes on non-relapse mortality. *Leukemia*. 2008; 22: 2062-2069.

- 332) Yang WC, Chen YT, Chang WW, et al. Outcome predictors of allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Am J Med Sci.* 2013; 345 (1): 33-8.
- 333) Yazer MH, Triulzi DJ. Immune hemolysis following ABO-mismatched stem cell or solid organ transplantation. *Curr Opin Hematol* 2007; 14(6):664-70.
- 334) Yoshihara S, Tateishi U, Ando T, et al. Lower incidence of Bronchiolitis obliterans in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning compared with myeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 1195–1200.
- 335) Yoshihara S, Yanik G, Cooke KR et al. Bronchiolitis obliterans syndrome (BOS), bronchiolitis obliterans organizing pneumonia (BOOP), and other late-onset noninfectious pulmonary complications following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13 (7): 749-759.
- 336) Young GB, Bolton CF, Austin TW et al. The encephalopathy associated with septic illness. *Clin Invest Med.* 1990; 13: 297–304.
- 337) Yousem SA. The histological spectrum of pulmonary graft versus-host disease in bone marrow transplant recipients. *Hum Pathol.* 1995; 26: 668-675.
- 338) Zager RA, O’Quigley J, Zager BK, Alpers CE, Shulman HM, Gamelin LM et al. Acute renal failure following bone marrow transplantation: a retrospective study of 272 patients. *Am J Kidney Dis* 1989; 13: 210–216.
- 339) Zager RA. Acute renal failure in the setting of bone marrow transplantation. *Kidney Int* 1994; 46:1443–58.
- 340) Zeigler ZR, Shaddock RK, Nemunaitis J, Andrews DF, Rosenfeld CS. Bone marrow transplant-associated thrombotic microangiopathy: a case series. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 247-253.