

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA

TESI DOCTORAL

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE
PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS CON ACONDICIONAMIENTO DE
TOXICIDAD REDUCIDA**

Doctorando: Pere Barba Suñol

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

2014

A la Mamà i l'avi Jaume, els primers metges que, literalment, vaig veure.

Al Rafa, que excepte medicina, m'ha ensenyat tot el que he necessitat per arribar fins aquí.

Agradecimientos

Vull recordar i reconèixer...

Al Dr. José Luís Piñana por su infinita paciencia en mis inicios en la investigación y por haberme preguntado, el primer día de mi rotación por hematología, si me gustaba el trasplante.

Al servei d'Hematologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i als seus membres per haver contribuït a la meva formació de metge i hematòleg. Molt especialment als tutors de residents, la Dra. Salut Brunet i el Dr. Jose Mateo, i també a la Dra. Anna Sureda, per la seva gran implicació en la formació d'incomptables generacions de residents.

A l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, institució centenària, un tros de la meva vida on vaig passar vuit anys de formació, vaig conèixer la Sus i hi van néixer la Cloe, el Manel i l'Aleix.

Al Prof. Jordi Sierra per la seva persistent confiança en mi.

A la Unidad de Trasplante Hematopoyético del Hospital Universitario Vall d'Hebron y en particular al Dr. David Valcárcel por haber construido un proyecto común entre risas, discusiones y alguna que otra cerveza.

Als companys del Servei d' Hematologia de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron per fer que cada jornada laboral es desenvolupi en un gran ambient humà.

Al Dr. Francesc Bosch per haver confiat en mi, sense pràcticament conèixer-me.

A la Dra. Nerea Castillo per la seva contribució al contingut d'aquesta tesi. També a la Dra. Helena Allende, del Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron, per haver-me proporcionat les imatges histològiques i al Dr. Juan Carlos Juárez i la Sra. Irina Kornusova per assessorar-me en l'estudi de les toxicitats farmacològiques.

A los Servicios de Hematología del Hospital Clínic de Barcelona y Universitario de Salamanca y muy especialmente a los Dres. Francesc Fernández Avilés, José Antonio Pérez Simón y Lucía López Corral, sin los cuales esta tesis no hubiera sido posible.

A M.C gràcies a qui, sense que ho arribés mai a saber, sóc hematòleg.

Y, finalmente, al Dr. Rodrigo Martino, maestro y modelo que trasciende lo médico.

Glosario de abreviaturas

Alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
ALT: alanin-aminotransferasa
AST: aspartato-aminotransferasa
CMH: complejo mayor de histocompatibilidad
CMV: citomegalovirus
EBMT: *European Group for Blood and Marrow Transplantation*
EEUU: Estados Unidos de América
EICR: enfermedad de injerto contra el receptor
GGT: gamma-glutamiltanspeptidasa
Gy: Gray
HLA: human leukocyte antigen
IFN γ : Interferon gamma
Il: Interleucina
KPS: Karnofsky performance status
LDH : lactato deshidrogenasa
LMA: leucemia mieloide aguda
LMC: leucemia mieloide crónica
MRT: mortalidad relacionada con el trasplante
SOSH: síndrome de obstrucción sinusoidal hepático
TNF α : factor de necrosis tumoral alfa
VEB: virus de Epstein-Barr
VHB: virus de la hepatitis B
VHC: virus de la hepatitis C
VHS: virus del herpes simple
VIH: virus de la inmunodeficiencia humana
VVZ: virus varicela zoster

INDICE

1. MOTIVACION DE LA TESIS DOCTORAL

2. PREÁMBULO

3. INTRODUCCION

3.1 El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

3.1.1 Una reseña histórica

3.1.2 Generalidades del alo-TPH

3.1.2.1 Objetivos del alo-TPH

3.1.2.2 El procedimiento

3.1.2.3 La enfermedad de injerto contra el receptor y el efecto injerto contra tumor

3.1.3 El alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida

3.2 Estudio de factores predictivos de los resultados en el alo-TPH

3.2.1 Factores pronósticos individuales

3.2.2 Modelos combinados

3.2.2.1 Comorbilidades

3.2.2.2 Otros modelos

3.3 La función hepática en el alo-TPH

3.3.1 La función hepática en los pacientes candidatos a trasplante

3.3.1.1 Generalidades

3.3.1.2 Evaluación de la función hepática

3.3.1.3 Implicaciones de las alteraciones hepáticas pre-TPH

3.3.2 Estrategias de *protección hepática* en el periodo peri-trasplante

3.3.3 Complicaciones hepáticas del alo-TPH

3.3.3.1 Enfermedad del injerto contra el receptor hepática

3.3.3.2 Síndrome de obstrucción sinusoidal hepático

3.3.3.3 Daño hepático inducido por fármacos

3.3.3.4 Infecciones

3.3.3.5 Sobrecarga férrica

3.3.3.6 Otras

3.4 Justificación de la unidad temática del proyecto

4 OBJETIVOS

5 RESULTADOS

5.1 Artículo 1: 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;16:413-20

5.2 Artículo 2: Barba P, Piñana JL, Fernández-Avilés F, et al. *Pretransplantation liver function impacts on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a study of 455 patients.* Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17:1653-61

5.3 Artículo 3: Barba P, Martino R, Perez-Simón JA, et al. *Incidence, characteristics and risk factors of marked hyperbilirubinemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning.* Bone Marrow Transplant. 2012;47:1343-9

6 DISCUSIÓN

7 CONCLUSIONES

8 BIBLIOGRAFIA

1. MOTIVACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

La creación de una cosa, y la creación más la comprensión completa de una idea concreta de la cosa, constituyen muy a menudo partes de uno y el mismo proceso indivisible y no pueden separarse sin producirse la detención del proceso.

Paul Feyerabend

La separación entre la creación y la comprensión de la idea que pretendemos crear puede ser, como dice Feyerabend, una simple arbitrariedad. La motivación de esta tesis doctoral, podría regirse por dicho principio.

Inicialmente, los motores que me impulsaron a emprender este trabajo fueron tres: el desarrollo y realización intelectual, la contribución a la génesis de conocimiento colectivo y la utilidad pragmática de la tesis doctoral. La realización intelectual responde al enorme esfuerzo que supone la realización de una tesis que funciona como reto personal y estímulo de creatividad, con la consiguiente satisfacción cuando se alcanzan los objetivos propuestos. En segundo lugar, la opción de poder influir, independientemente de la intensidad, en el bienestar de la colectividad representa, según mi punto de vista, la realización de la esencia más propia del ser humano. Finalmente, el pragmatismo: a nadie escapa la utilidad de poseer un título de doctor de cara a nuevas oportunidades laborales y de recursos en I+D+I.

Una vez culminado el proceso de creación advino nuevos niveles de comprensión. Esta tesis representa la culminación de un período laboral y científico. Un periodo de formación de nueve años que me ha permitido iniciar un contacto con la ciencia y con la Ciencia, desde una perspectiva metodológica y ontológica.

El inicio de un vínculo, que adivino irreversible, con la generación de conocimiento utilizando los principios del método científico. Una plataforma para desarrollar los siguientes retos científicos y personales, sean los que sean.

2. PREÁMBULO

El ámbito de estudio de esta tesis doctoral son los trasplantes alogénicos de progenitores hematopoyéticos con acondicionamiento de toxicidad reducida. El origen de esta modalidad de trasplante se remonta a la década de 1980, cuando se empezaron a desarrollar nuevas formas de acondicionamiento para el alo-TPH. Estas contenían menores dosis de irradiación y agentes alquilantes que permitían realizar el procedimiento a pacientes añosos o con comorbilidades, con una toxicidad asumible. Estos nuevos regímenes han recibido múltiples nombres a lo largo del tiempo. Consensos internacionales a ambos lados del Atlántico (Bacigalupo et al. 2004; Giralt et al. 2009) han intentado clasificarlos en función del tipo y la dosis de fármacos usados. Sin embargo, sigue existiendo una gran confusión semántica alrededor de estos acondicionamientos. En los 3 trabajos que conforman esta tesis se incluyen acondicionamientos no mieloablativos, de intensidad reducida e incluso algunos de ellos puede ser considerados mieloablativos (fludarabina y busulfan oral a 10mg/Kg). En cualquier caso, la intensidad de los acondicionamientos está lejos de los clásicos acondicionamientos mieloablativos con irradiación corporal total con 12 Gy o combinaciones con busufán oral a 16mg/kg. Además, la ambición de los protocolos usados en estos pacientes fue disminuir la toxicidad del acondicionamiento para poder ampliar las indicaciones de trasplante a pacientes que no hubieran sido candidatos a un alo-TPH convencional. Por todo ello y de acuerdo con el proceder de otros investigadores (Rutuu et al. 2011; Marks et al. 2008) he decidido utilizar el término genérico *toxicidad reducida* para referirme a los acondicionamientos que recibieron estos pacientes.

3. INTRODUCCION

3.1 El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

3.1.1 Una reseña histórica

Dos adjetivos permiten calificar de manera muy gráfica la historia y evolución del alo-TPH: breve y exponencial. *Breve* porque los albores del alo-TPH, aunque muy lejanos cualitativamente a los modelos actuales, se sitúan únicamente, 70 años atrás. En la década de 1940 (Morrison et al. 1940; Jacobson et al. 1949), las observaciones de los efectos tóxicos de las radiaciones producidas en Hiroshima y Nagasaki al final de la segunda guerra mundial, supusieron los primeros pasos del alo-TPH. También *exponencial*, porque los avances que se han producido a nivel clínico y biológico en los últimos 25 años han sido extraordinarios comparados con el medio siglo precedente. Inicialmente, se tardaron 3 décadas en realizar los primeros trasplantes de donantes familiares (Gatti et al. 1968) y casi 40 años en desarrollar el primer registro de donantes. Desde la década de 1980 el conocimiento entorno al alo-TPH ha sufrido una gran expansión desde el punto de vista biológico, asistencial y organizativo.

Respecto la biología, desde que a finales de la década de 1950 se produjera el descubrimiento del sistema de compatibilidad leucocitaria antigénica humana (HLA, en sus siglas en inglés) que le valió el premio Nobel de Fisiología y Medicina a B. Benacerraf, J.Dausset y G.D Snell, y que supuso un cambio de paradigma en el campo del alo-TPH, muchos otros avances han ocurrido. Algunos de ellos son los descubrimientos en el conocimiento biológico de la EICR (Shlomchik et al. 1999) y el efecto del injerto contra tumor (den Haan et al. 1995) así como el desarrollo de terapias génicas

avanzadas que permiten reducir el riesgo de EICR, infecciones virales o recaída de la enfermedad (Doubrovina et al. 2012; Tsuboi et al. 2012).

Entre los grandes avances asistenciales cabe resaltar el reconocimiento de la importancia de la inmunosupresión y su desarrollo, el uso de nuevas fuentes de progenitores (sangre periférica movilizada y sangre de cordón umbilical) y las nuevas modalidades de trasplante (trasplante haploidéntico, trasplante dual). También destacable fue el desarrollo de los llamados acondicionamientos de toxicidad reducida que permitieron aumentar el número de pacientes candidatos a recibir un alo-TPH y que serán tratados en mayor profundidad en el presente trabajo.

Finalmente, a nivel organizativo ha resultado fundamental el desarrollo de registros de donantes y bancos de cordón umbilical, así como la creación y expansión de grandes grupos cooperativos nacionales e internacionales que permiten la interacción entre profesionales y la investigación clínica y traslacional. Sirvan como ejemplo, el *Centre for Investigation of Bone and Marrow Transplantation* (CIBMTR), fundado en 1972 en EEUU, el *European Group for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT), fundado en 1974 en Europa y, en nuestro ámbito, el Grupo Español de Trasplante Hematopoyético (GETH), fundado en 1994.

Estos y otros muchos avances han contribuido de manera decisiva a un mayor conocimiento del alo-TPH y, más importante, a la mejora de los resultados del procedimiento y del pronóstico de estos pacientes a lo largo de los años (Gooley et al. 2010).

3.1.2 Generalidades del alo-TPH

No es tarea del presente trabajo profundizar en el conocimiento biológico o clínico de los múltiples aspectos del alo-TPH. Sin embargo, resulta imprescindible aportar una visión global y detallar algunos aspectos concretos del procedimiento para una correcta comprensión del presente trabajo de investigación.

3.1.2.1 Objetivos del alo-TPH

El fundamento del alo-TPH se basa en el efecto inmunológico que ejercen las células del donante sobre el receptor. Los objetivos que se persiguen con el procedimiento varían en función del tipo de enfermedad y se pueden resumir en los siguientes puntos:

1. Sustituir el sistema inmune del paciente por el del donante para disminuir el riesgo de recaída de una enfermedad maligna; la principal indicación en pacientes adultos.
2. Sustituir la funcionalidad de una médula ósea o de un sistema inmunes dañados, ya sea de forma congénita o adquirida, como es el caso de la aplasia medular y en las inmunodeficiencias.
3. Facilitar la producción de enzimas u otras moléculas cuya síntesis es insuficiente o anómala, habitualmente por un déficit congénito de su producción. Este es el caso de las metabolopatías y talasemias, indicaciones más habituales en los pacientes pediátricos.

3.1.2.2 El procedimiento

Los aspectos técnicos del alo-TPH dependen de varios factores como la enfermedad de base, la fuente de progenitores o la compatibilidad HLA entre donante y receptor. Sin embargo, se puede extrapolar un modelo genérico de 6 puntos que se ajusta, en

1983). Más recientemente, se han introducido otros fármacos como los análogos de las purinas (especialmente fludarabina) que han permitido el desarrollo de los llamados acondicionamientos de toxicidad reducida (ver apartado 3.1.3). Finalmente, otros fármacos no quimioterápicos clásicos utilizados en el tratamiento de las diferentes enfermedades se han incorporado a los regímenes de acondicionamiento con el objetivo de disminuir el riesgo de recaída de la enfermedad de base; rituximab (Khoury et al. 2008) o ibritumomab tiuxetan (Khoury et al. 2012) son algunos ejemplos.

Independientemente del esquema utilizado, el acondicionamiento del alo-TPH persigue un doble objetivo:

- a. Erradicar o reducir el número de células malignas o anormales presentes en el receptor y causantes de la recaída de la enfermedad.
- b. Disminuir la capacidad del sistema inmune del paciente, para facilitar el injerto de las células infundidas.

Clásicamente se había considerado que el acondicionamiento permitía crear espacio físico para el desarrollo de la nueva médula ósea. Sin embargo, se ha demostrado la capacidad de las células infundidas para crear su espacio para implantar y desarrollarse (Stewart et al. 1993) por lo que este concepto parece superado.

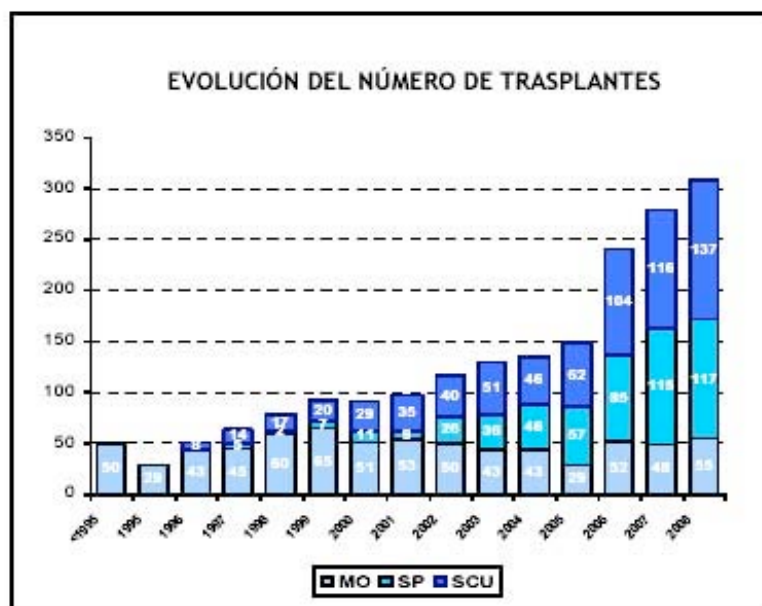
2. Obtención e infusión de progenitores hematopoyéticos

En las primeras décadas, la fuente de progenitores hematopoyéticos fueron las células obtenidas directamente de la médula ósea de los donantes a partir de repetidas punciones realizadas en los huesos planos, normalmente de la pelvis.

En la década de 1990 y gracias al desarrollo de factores de crecimiento hematopoyéticos recombinantes como el G-CSF, se empezó a usar la sangre periférica movilizada con estos factores para obtener precursores hematopoyéticos mediante aféresis. Este procedimiento permite evitar el uso de quirófano, anestesia y disminuir el dolor a los donantes. Su uso se extendió rápidamente en los centros de trasplante y actualmente representa la fuente de progenitores más utilizada en adultos (Figura 2) (Passweg et al. 2012). Múltiples estudios han evaluado el impacto de estas dos fuentes en los resultados del trasplante de donante familiar histocompatible (Powles et al. 2000; Blaise et al. 2000; Bensinger et al. 2001). El resultado de estos trabajos, recogidos en un metanálisis (Stem Cell Trialists' Collaborative Group. 2005) focalizados en trasplante de donantes familiares, mostraron una supervivencia global y una MRT similares entre ambas fuentes, aunque con algunas peculiaridades. Por ejemplo, pacientes que recibían sangre periférica presentaban un mayor riesgo de desarrollar EICR y un menor riesgo de recaída que los pacientes que recibían médula ósea. En el caso de los donante no emparentados, han tenido que transcurrir más de 20 años para la publicación del primer trabajo randomizado. En este estudio (Anasetti et al. 2012) se confirmó el mayor riesgo de EICR crónica y el menor riesgo de fallo del injerto en los pacientes que recibían sangre periférica, sin encontrar tampoco diferencias en supervivencia ni en el riesgo de recaída. Así pues, y a pesar de no detectar diferencias en supervivencia, parece que el tipo de fuente tiene impacto en los resultados del procedimiento y su elección tiene que tener en consideración el riesgo de la enfermedad de base, de desarrollar EICR y de fallo del implante.

La tercera fuente en aparecer fue la sangre de cordón umbilical. Desde la primera experiencia realizada en Francia por Gluckman y colaboradores en 1988 (Gluckman et al. 1989), su uso ha crecido de manera exponencial, muy especialmente en pediatría donde es la principal fuente de progenitores en los trasplantes de donante no familiar en el momento actual. La menor capacidad inmunogénica de los progenitores del cordón umbilical permite una mayor diferencia HLA entre donante y receptor que con las otras dos fuentes, aunque por el moderado contenido de precursores, su uso está condicionado al peso del receptor. Varios estudios han demostrado unos resultados similares en términos de supervivencia libre de enfermedad entre la sangre de cordón comparado con la médula ósea (Laughlin et al. 2004) y con sangre periférica (Eapen et al. 2010) con alguna diferencia HLA. Sin embargo, no se han realizado, y probablemente nunca se harán, ensayos clínicos prospectivos randomizados entre esta y otras fuentes que permitan evitar los sesgos que presentan estos estudios de registro. En cualquier caso y como norma general, la infusión de progenitores se realiza en la sangre periférica del paciente, normalmente a través de un catéter venoso central, y los progenitores migran directamente a los órganos hematopoyéticos.

FIGURA 2. Evolución del número de alo-TPH de donante no emparentado en España en función de la fuente de progenitores utilizada.



Fuente: Registro Español de Donantes de Médula Ósea (REDMO) (con permiso).

3. Tratamiento inmunosupresor

La necesidad de administrar tratamiento inmunosupresor al paciente para disminuir el riesgo de desarrollar EICR fue comprendida en los primeros años de historia del alo-TPH (ver apartado 3.1.1). Por ello, múltiples estrategias han sido desarrolladas en las décadas sucesivas. La mayoría de ellas se basan en la utilización de un inhibidor de calcineurina (ciclosporina o tacrolimus) en combinación con otros fármacos (metotrexate, micofenolato mofetilo, rapamicina, ciclofosfamida...). Suelen iniciarse previamente a la infusión de los progenitores y mantenerse durante algunos meses, en función de varios factores como el desarrollo de EICR o el tipo y el estado de la enfermedad de base en el momento del trasplante.

4. Fase neutropénica

Se considera el periodo que transcurre entre la administración del acondicionamiento y la recuperación de granulocitos. Las principales complicaciones que ocurren en este periodo son las derivadas del acondicionamiento y de la pancitopenia como náuseas y vómitos, alopecia, toxicidad gastrointestinal (mucositis oral, diarreas), infecciones, hemorragias, toxicidades orgánicas, y, tras la recuperación hemoperiférica, la EICR aguda. La mayoría de los pacientes se encuentran en régimen hospitalario durante este periodo.

5. Fase ambulatoria precoz

Transcurre durante los primeros meses del trasplante. El paciente puede presentar durante esta fase EICR aguda, toxicidades orgánicas derivadas de los distintos fármacos, infecciones y recaída de la enfermedad de base. No es infrecuente que los pacientes tengan que reingresar en el hospital por alguna de estas eventualidades (Bejanyan et al. 2012).

6. Fase ambulatoria tardía

Se puede considerar de manera arbitraria a partir del momento en que el paciente se encuentra relativamente estable y se ha iniciado el descenso o retirada de la inmunosupresión. Las complicaciones más frecuentes en esta fase son la EICR crónica, recaída de la enfermedad de base e infecciones. Hay que recordar que los efectos del alo-TPH pueden producirse durante toda la vida del paciente por lo que es recomendable el seguimiento de estos pacientes ya que presentan un riesgo aumentado de neoplasias secundarias, enfermedades

cardiovasculares y endocrinológicas (Friederichs et al. 2010; Hows et al. 2006).

Por otro lado, se ha demostrado el impacto negativo del alo-TPH sobre la calidad de vida de los pacientes, incluso a muy largo plazo (Bieri et al. 2008).

3.1.2.3 La enfermedad de injerto contra el receptor y el efecto injerto contra tumor

La capacidad inmunogénica de los precursores hematopoyéticos del donante infundidos en el receptor es el fundamento donde se asientan la EICR y el efecto injerto contra tumor. Si bien estos dos fenómenos están altamente relacionados se tratarán a continuación de forma separada.

La enfermedad de injerto contra el receptor

El desarrollo de la EICR aguda fue reconocido hace más de medio siglo a partir de modelos murinos y representa, en la actualidad, la principal complicación del alo-TPH. Los ratones irradiados a los que se les infundían células de médula ósea y bazo, presentaban recuperación de aplasia medular inducida por la radiación, aunque en pocos días morían de la *enfermedad secundaria*. Este síndrome, que se presentaba en forma de diarreas, pérdida de peso, alteraciones cutáneas y hepáticas (Barnes et al. 1957) se identificaría, posteriormente, como la EICR. En 1966, Billingham definió las condiciones necesarias para el desarrollo de EICR: células inmunocompetentes en el producto infundido, incapacidad del receptor para rechazar las células del donante y expresión en el donante de antígenos que no estaban presentes en el receptor (Billingham, 1966).

Más tarde, Ferrara desarrolló un modelo fisiopatológico más completo para el desarrollo de EICR en tres pasos (Ferrara et al. 1996) (Figura 3):

1. Efectos del acondicionamiento. Daño tisular

El tratamiento de acondicionamiento produce un daño tisular en el receptor que conduce a la activación de citocinas inflamatorias como el $\text{TNF}\alpha$ y la Il-1 . Estas citocinas favorecen el reconocimiento de antígenos del receptor por parte de los linfocitos T del donante mediante un aumento de la expresión de moléculas del CMH en las células presentadoras de antígeno del receptor.

2. Activación de células T del donante

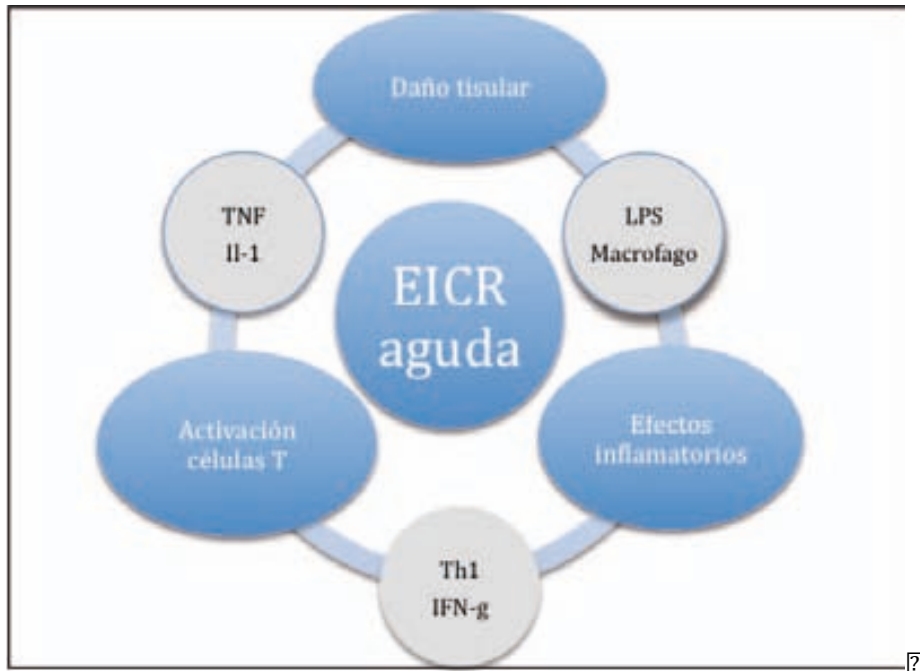
Las células presentadoras de antígenos presentan aloantígenos a las células T en reposo del donante mediante complejos peptídicos con las moléculas HLA. Señales coestimuladoras activan las células T y se produce la liberación de citocinas como la Il-2 e $\text{IFN}\gamma$ (Via et al. 1993). Se produce entonces la expansión de células T, la inducción de la respuesta citotóxica de los linfocitos T, así como el desarrollo de las células T reguladoras, un mecanismo de freno natural a la reacción injerto contra receptor (Seddiki et al. 2006).

3. Efectores inflamatorios y celulares

Mediadores liberados durante la fase 1, activan las células mononucleares fagocíticas y los neutrófilos. Las citocinas inflamatorias estimulan, por su parte, la producción de citocinas inflamatorias por parte de los tejidos dañados, que conducen a la activación de células T. De esta forma se produce una amplificación cíclica del daño tisular con la consiguiente activación de la respuesta inflamatoria.

RESUMEN: AÑO 2015, BARCELONA, ESPAÑA. INCIDENCIA DE LA

INTRODUCCIÓN: El objetivo es



?

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el impacto de la EICR aguda en la salud pública y su relación con el sistema inmunitario.

El presente estudio se realizó en un hospital de tercer nivel durante un periodo de 12 meses. Se analizaron los datos clínicos de los pacientes con diagnóstico de EICR aguda.

Los resultados muestran que la EICR aguda se presenta con mayor frecuencia en pacientes con antecedentes de enfermedades crónicas.

En conclusión, la EICR aguda es una enfermedad compleja que requiere un abordaje multidisciplinario para su manejo adecuado.

?

El presente estudio tiene como limitación el ser un estudio retrospectivo, lo que puede afectar a la validez de los resultados.

?

establecer una gradación clínica con capacidad pronóstica mediante, al menos, dos sistemas: el de Glucksberg (Glucksberg et al. 1974) y el del IBMTR. Cabe mencionar, que existe también un sistema de gradación histológica en función de los hallazgos en las biopsias de los órganos afectados, aunque la correlación pronóstica parece menor que con los criterios clínicos.

Tabla 1. Grado de afectación clínica de la EICR aguda por órgano

Órgano	Grado	Definición
Piel	1	Afectación en < 25% de superficie corporal
	2	Afectación en 25-50% de superficie corporal
	3	Eritema generalizado
	4	Eritrodermia, vesículas, descamación
Hígado	1	Bilirrubina 2-3 mg/dL
	2	Bilirrubina 3.1-6 mg/dL
	3	Bilirrubina 6.1-15 mg/dL
	4	Bilirrubina > 15 mg/dL
Intestino	1	Diarrea 500-1000ml/día
	2	Diarrea 1000-1500ml/día
	3	Diarrea > 1500ml/día
	4	Dolor abdominal intenso o íleo

La profilaxis de la EICR ha sido ya analizada brevemente (apartado 3.1.2), y no se tratará con más profundidad. Cabe mencionar, que a pesar de los sucesivos avances y combinaciones estudiadas, la EICR aguda sigue desarrollándose en un 30-50% de los pacientes, en función del tipo de donante y de la identidad HLA.

El tratamiento de la EICR aguda se basa en fármacos inmunosupresores. A pesar de los múltiples estudios realizados en las últimas décadas, el tratamiento estándar continua siendo la administración de esteroides a 1-2mg/kg. Con este tratamiento, aproximadamente un 50% de los pacientes presentan una buena respuesta (MacMillan et al. 2002). Para el resto, se abre un amplio abanico de posibilidades terapéuticas, aunque la realidad es que ninguna de ellas ha demostrado una clara superioridad frente a las demás y que la mayoría de estos pacientes no sobrevive a largo plazo.

El caso de la EICR crónica resulta, si cabe, más complejo y desconocido. Inicialmente se definió en base al tiempo de presentación (más allá de los 100 días del alo-TPH) y no en base a su fisiopatología. La dificultad para desarrollar modelos animales de EICR crónica, ha contribuido a su desconocimiento. En términos generales, puede decirse que la EICR crónica tiene más similitudes con las enfermedades autoinmunes. El papel de otros mecanismos fisiopatológicos como linfocitos B y la respuesta humoral (Patriarca et al. 2006), la estimulación de fibroblastos mediada por Il-4 y la respuesta Th2 (Elison et al. 2002) ha sido reconocido en la EICR crónica pero exceden por completo el centro de atención del presente trabajo.

La presentación clínica es altamente variable y puede afectar múltiples órganos o tejidos como los ojos, la mucosa oral y genital, la piel, el pulmón o el hígado, simulando en muchas ocasiones, la presentación de algunas enfermedades autoinmunes.

El tratamiento de primera línea consiste, de nuevo, en la administración de corticosteroides que pueden combinarse con inhibidores de calcineurina. Existe un estudio randomizado en marcha que pretende analizar diferentes combinaciones de tratamiento para la EICR crónica aunque los resultados de dicho estudio no se esperan antes del final de la presente década (Abouelnasr et al. 2013). Para los pacientes que no responden al tratamiento de primera línea existen múltiples fármacos y estrategias, aunque, nuevamente, ninguna ha demostrado una clara superioridad frente a las otras. En cualquier caso, la duración del tratamiento tanto de primera línea como de rescate, se suele prolongar durante varios meses e incluso años.

El efecto de injerto contra el tumor

La eliminación de las células malignas que se produce en el alo-TPH viene determinado, en parte, por el efecto inmunológico que las células del injerto ejercen sobre las células

malignas presentes en el receptor. Este efecto se encuentra fuertemente relacionado con la EICR, sobre todo a la EICR crónica (Valcárcel et al. 2008) aunque no de manera indisoluble, ya que se ha demostrado que el efecto injerto contra tumor puede presentarse sin el desarrollo de EICR.

La evidencia clínica en humanos del efecto del injerto contra tumor se constituyó a partir de la constatación de un menor riesgo de recaída en las siguientes situaciones:

1. Los pacientes que recibían alo-TPH sin modificar comparado con los trasplantes con depleción de linfocitos T. (Horowitz et al. 1990)
2. Los pacientes que recibían trasplantes alogénicos comparados con los que los recibían autólogos. (Zittoun et al. 1995)
3. Los donantes hermanos no-gemelos comparado con los gemelos singénicos. (Fefer et al. 1987)
4. Los pacientes que recibían infusiones de linfocitos del donante respecto a aquellos que no las recibían. (Kolb et al. 1995)

Sin embargo, en todas estas situaciones la mortalidad relacionada con el procedimiento resultaba más alta, como consecuencia de un mayor riesgo de desarrollar EICR e infecciones. De hecho, la separación del efecto injerto contra tumor de la EICR, ha representado un amplio campo de investigación, ya que su control permitiría disminuir el riesgo de recaída sin aumentar la toxicidad derivada del procedimiento. Algunos lo han llegado a denominar el *santo grial* del alo-TPH (Ferrara et al. 2005).

El reconocimiento del efecto del injerto contra tumor fue uno de los pilares del desarrollo de los trasplantes de toxicidad reducida, ya que se esperaba que la erradicación de la neoplasia mediante dicho efecto permitiría disminuir la intensidad

del tratamiento de acondicionamiento y, en consecuencia, la mortalidad relacionada con el procedimiento

3.1.3 El alo-TPH con acondicionamientos de toxicidad reducida

Históricamente, el tratamiento de acondicionamiento fue visto como el principal elemento del trasplante para la erradicación de la enfermedad de base. Por ello, los alo-TPH estaban restringidos a pacientes jóvenes y con buen estado general, ya que las toxicidades derivadas del acondicionamiento en pacientes de edad avanzada, con comorbilidades o con varias líneas de tratamiento previos no se consideraban asumibles.

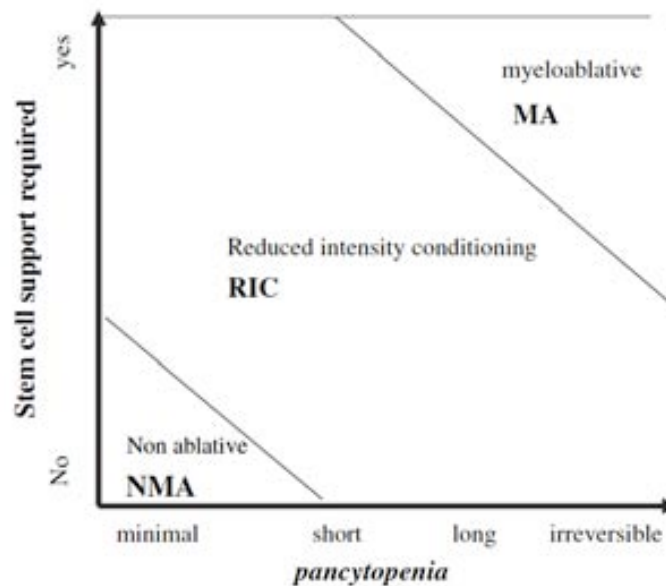
Sin embargo, a finales de la década de 1970, varios grupos empezaron a demostrar la importancia del efecto injerto contra tumor, como elemento esencial para el control de la enfermedad de base. Modelos murinos demostraron que diferentes modalidades de radiación en dosis no letales seguidas de infusión de células hematopoyéticas alogénicas y administración de fármacos inmunosupresores permitían establecer un quimerismo del donante estable con larga supervivencia de los sujetos y un bajo riesgo de desarrollar EICR (Slavin et al. 1978). Posteriormente, los modelos caninos demostraron igualmente que dosis no letales de radiaciones seguidas de infusión de células hematopoyéticas y de la administración de ciclosporina permitían obtener un injerto estable sin desarrollar EICR (Kernan et al. 1989). Sucesivos estudios con este modelo permitieron ajustar la dosis de irradiación y la introducción de otros inmunosupresores con resultados igualmente satisfactorios (Storb et al. 1997; Yu et al. 1998).

Con estos resultados, multitud de nuevos esquemas de acondicionamiento vieron la luz, la mayoría basados en fludarabina (Giralt et al. 1997) o dosis bajas de irradiación corporal total; es lo que se denominó como el contexto de la intensidad reducida. La

mayoría de esos acondicionamientos, han confirmado su capacidad para permitir un injerto estable con la colaboración de nuevas estrategias de inmunosupresión y un mejor perfil de toxicidad que los acondicionamientos precedentes. Los acondicionamientos de menor intensidad permitían también una recuperación más rápida de la neutropenia derivada del acondicionamiento. Sin embargo, esta modalidad de trasplante comportaba una duración más prolongada del quimerismo mixto post-TPH y un mayor riesgo de recaída de la enfermedad de base como consecuencia de la menor intensidad del acondicionamiento sobre la médula ósea y la enfermedad de base del paciente.

Como ya se ha comentado en el preámbulo, la gran variedad de estos nuevos acondicionamientos ha generado controversias taxonómicas y semánticas, por lo que algunos autores diferencian entre TPH de intensidad reducida, no mieloablativos y mínimamente tóxicos. A pesar de los documentos de consenso, el debate sobre como definir la intensidad de cada acondicionamiento se mantiene vivo en la actualidad. Conceptualmente, los diferentes regímenes se contextualizan en un eje de coordenadas bidimensional que sitúa cada esquema en función de la duración de la neutropenia que producen y la necesidad de un soporte de células hematopoyéticas.

FIGURA 4. Clasificación de los regímenes de acondicionamiento en función de su intensidad (Bacigalupo et al. 2009)



En cualquier caso, los acondicionamientos de toxicidad reducida permitieron ampliar la indicación de trasplante a pacientes de mayor edad, con comorbilidades o que hubieran recibido un TPH previo. Por todo ello, el estudio de los factores de riesgo individuales y en especial de las diferentes comorbilidades, resulta esencial en esta población de pacientes más anciana y frágil.

3.2 Estudio de factores predictivos de los resultados en el alo-TPH

Desde sus inicios y hasta nuestros días, uno de los grandes retos para el médico encargado de un paciente potencialmente candidato a un alo-TPH es determinar la indicación de trasplante para ese paciente concreto. Esta indicación resulta, en definitiva, de una evaluación de los beneficios y riesgos del procedimiento. Los beneficios vienen dados por el ya mencionado efecto del injerto contra tumor, que permite reducir el riesgo de recaída en los pacientes que reciben un alo-TPH en

Se dice que el éxito del trasplante depende de los factores de riesgo del receptor y del donante. Se debe evaluar el riesgo de rechazo y de infección, así como el estado de salud del receptor y del donante. El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante. El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante.

?

El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante.



?

El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante. El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante. El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante.

?

El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante.

El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante. El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante. El éxito del trasplante depende de la compatibilidad entre el receptor y el donante, así como del estado de salud del receptor y del donante.

?

TABLA 2. Principales factores individuales asociados a un mayor riesgo de complicaciones en los receptores de un alo-TPH.

Factor de riesgo	Mal pronóstico	Modificable	Referencia
Edad	Mayor	No	Juliusson et al. 2011
Tipo de enfermedad	Agresivas o menos susceptibles al efecto ICT	No	Rodrigues et al. 2009
Estado de la enfermedad	Progresión	En ocasiones	van Kampen et al. 2011; Claviez et al. 2009
Estado general	KPS < 80%	En ocasiones	Guilfoyle et al. 2009
Tipo de donante	No familiar HLA idéntico	No	Szydlo et al. 1997
Identidad HLA	No idéntico	En ocasiones	Eapen et al. 2010
Fuente progenitores	En función de la enfermedad y otros	Si	Anasetti et al. 2012, Eapen et al. 2010
Serología CMV	Otra de donante y receptor IgG negativos	Si (en DNE)	Bacigalupo et al. 1992
Grupo ABO	Incompatibilidad mayor (<i>en discusión</i>)	Si (en DNE)	Mielcareck et al. 2000
Edad donante	Avanzada	En ocasiones	Juliusson et al. 2011
Género donante	Donante mujer (multípara)	En ocasiones	Gratwhol et al. 2009
Tiempo diagnóstico-TPH	Prolongado	No	Gratwhol et al. 2009
Comorbilidades	Muchas y graves	No	Sorrer et al. 2005
Disfunción hepática	Alterada	No	Hogan et al. 2004
Insuficiencia renal	Alterada	No	Piñana et al. 2009
Patología respiratoria	Presente	No	Clark et al. 1989
Enfermedad cardíaca	Presente	No	Lehmann et al. 2000
Sobrecarga férrica	Elevada	En ocasiones	Altés et al. 2002
Experiencia del centro	Limitada	No	Frassoni et al. 2000

3.2.2 Modelos combinados

En los últimos años ha habido una creciente preocupación por el desarrollo de modelos combinados que permitan determinar, de una manera más adecuada, el riesgo que tiene un paciente concreto de sufrir complicaciones después del TPH. El objetivo final es influir en la indicación de trasplante para un paciente concreto. Estos modelos se han desarrollado sobre la base de los múltiples trabajos que analizan factores individuales (algunos de ellos incluidos en la tabla 2) y que arrojan de manera genérica, las siguientes conclusiones:

- a.) La indicación no puede basarse en un único factor (por ejemplo la edad), ya que se estaría obviando la importancia de decenas de otros que podrían condicionar, por si solos, la indicación de trasplante.
- b.) La importancia de cada factor no es la misma y se requiere su jerarquización.
- c.) Si se construyen modelos que combinen varios factores de riesgo es imprescindible que tengan fácil aplicabilidad para que puedan ser trasladados a la práctica clínica habitual.

3.2.2.1 Comorbilidades

El desarrollo de los trasplantes con acondicionamientos de toxicidad reducida, entre otras mejoras, han permitido realizar alo-TPH a pacientes añosos o con alteraciones orgánicas importantes. Por ello, las comorbilidades de los pacientes han pasado a jugar un papel determinante en las unidades de trasplante. En los últimos años, se han desarrollado y utilizado varios modelos basados en las comorbilidades del paciente para intentar predecir los resultados del procedimiento.

Los dos más utilizados y que han demostrado mayor capacidad predictiva de mortalidad en el contexto del alo-TPH sitúan la función hepática en un punto clave del modelo y son los siguientes:

El Índice de comorbilidad de Charlson

Este modelo se desarrolló en los años 1980 a partir de las historias clínicas de 559 pacientes consecutivos que ingresaron en un hospital universitario (Charlson et al. 1987). Incluía 19 comorbilidades (posteriormente se añadió la edad) a las que se les asignaron un peso para conformar un valor a partir del sumatorio de los subvalores de cada condición. Sin embargo, este modelo tiene algunas limitaciones en su valor predictivo en los pacientes candidatos a un alo-TPH. En primer lugar, no es un modelo desarrollado en el contexto del alo-TPH por lo que algunas de sus categorías no se ajustan a la realidad del trasplante. Por ejemplo, la categoría que mayor peso específico en el índice, la insuficiencia hepática severa, se define como cirrosis con hipertensión portal y/o varices esofágicas, unos pacientes que, normalmente, no se consideran candidatos a un alo-TPH. Otra limitación es la falta de concreción en la definición de algunos criterios que no están detallados con valores numéricos y son susceptibles de interpretación subjetiva. Por otro lado, el índice no incluye algunas comorbilidades importantes en el alo-TPH como las alteraciones psiquiátricas.

A pesar de todas sus imitaciones, el índice de Charlson se ha validado en diferentes contextos dentro del alo-TPH (Sorrer et al. 2004; Diaconescu et al. 2004) demostrando cierta capacidad predictiva, especialmente en los trasplantes con acondicionamiento mieloablativo, aunque no así en trasplantes con acondicionamiento de toxicidad reducida.

El índice de comorbilidad específico del trasplante hematopoyético

Debido a las limitaciones del modelo de Charlson, investigadores de la Universidad de Seattle (EEUU) desarrollaron un nuevo modelo predictivo en el contexto del alo-TPH a partir del clásico Índice de Charlson. Las principales modificaciones introducidas en el nuevo modelo fueron:

1. Se modificaron muchas de las definiciones de comorbilidades introduciendo valores analíticos o de otras pruebas complementarias para facilitar su reproducibilidad intrínseca y extrínseca.
2. Se incrementó el número de comorbilidades en la primera fase de desarrollo del modelo para adaptarse a la realidad de los receptores de un alo-TPH.

El resultado fue la creación de un índice de comorbilidad con 17 variables que en relación con el modelo de Charlson contaba con 3 nuevas comorbilidades y 9 vieron modificados su peso. Las variables de mayor peso fueron el antecedente previo de otra neoplasia, la afectación pulmonar severa y valvular cardíaca, así como la alteración hepática severa (Tabla 3) que fue la variable individual asociada a mayor riesgo de MRT de todas las que se analizaron.

El índice fue validado posteriormente en otro grupo de pacientes diferente de la misma institución mostrando una capacidad predictiva superior al modelo de Charlson. Dicho modelo pasó a llamarse Índice de Comorbilidad específico del Trasplante Hematopoyético aunque es más conocido por sus siglas en inglés (HCT-CI) o como Índice de Sorrow, en referencia al primer autor de la publicación (Sorrow et al. 2005). Posteriormente, el HCT-CI ha sido validado en cohortes específicas de pacientes como pacientes con leucemia aguda (Sorrow et al. 2007) o linfomas (Farina et al. 2009), fuentes de progenitores como el cordón umbilical (Wildes et al. 2008) y en trasplantes autólogos (Labonté et al. 2008).

TABLA 3. El índice de comorbilidad específico del trasplante hematopoyético

Comorbilidad	Puntuación	Definición
Arritmia	1	Fibrilación auricular, flutter, síndrome de nodo sinusal enfermo o arritmias ventriculares
Cardiaco	1	Enfermedad coronaria, insuficiencia cardiaca congestiva, IAM, FEVI<50%
E.I. 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 µmol/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>176µmol/l, diálisis, o trasplante renal previo
Tumor previo	3	Tratamiento para neoplasia en algún momento (excluye tumor cutáneo no melanoma)
Valvular cardiaca	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

Abreviaturas: FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; DM, diabetes mellitus IAM, infarto agudo de miocardio; AVC, accidente vascular cerebral; AIT, accidente isquémico transitorio; IMC, índice de masas corporal; DLCO, capacidad de difusión del monóxido de carbono; FEV1, fracción espiratoria en el primer segundo.

Desde su creación el HCT-CI se ha convertido en un índice de referencia para la evaluación del paciente candidato a trasplante hematopoyético. Sin embargo, su capacidad predictiva, aunque mayor que la del modelo de Charlson, sigue siendo moderada y se sitúa alrededor del 65%.

3.2.2.2 Otros modelos

Si bien las comorbilidades juegan un papel determinante en los resultados del alo-TPH, no son estas las únicas variables implicadas en el desarrollo del trasplante. En el apartado 3.2.1, se han comentado algunos de los más destacables, aunque no son los

únicos. Por ello, algunos investigadores han desarrollado nuevos modelos combinados incluyendo otros factores pronósticos.

El modelo PAM

El modelo predictivo (Tabla 4) para la determinación de la mortalidad post-trasplante (PAM, en sus siglas en inglés) está basado en una combinación de comorbilidades como la función hepática y otras variables clásicas pre-TPH como la edad, el tipo de donante y la intensidad del acondicionamiento (Parimon et al. 2006). Este modelo ha mostrado parcialmente su capacidad predictiva aunque su validación externa en otras cohortes de pacientes ha arrojado resultados dispares (Xhaard et al. 2008). Por ello, su uso en los centros de trasplante resulta menos habitual.

El *score* del EBMT

El modelo predictivo del EBMT fue desarrollado a finales de la década de 1990 por A. Gratwhol y colaboradores (Gratwhol et al. 1998), por lo que se conoce también con el nombre de Índice de Gratwhol. Consiste en un modelo compuesto por 5 variables sencillas y rápidas de obtener (Tabla 4) por lo que es un modelo fácilmente aplicable en la práctica diaria. Cabe resaltar que el modelo no incluye ninguna comorbilidad. El índice fue desarrollado inicialmente en el contexto de la LMC, la principal indicación de trasplante alogénico en los años 90. Con el tiempo, ha sido validado en grandes grupos de pacientes (Gratwhol et al. 2009) y su uso se ha extendido a la mayoría de unidades de trasplante, sobre todo europeas. Sin embargo, el modelo tiene sus limitaciones ya que otorga la misma puntuación a un paciente sin antecedentes médicos que a uno con alteraciones hepáticas y renales severas, si estos comparten la misma edad, enfermedad y características del donante. En este caso, la capacidad predictiva del modelo se sitúa

alrededor del 63%, por lo que los mismos autores del modelo, consideran que existe margen de mejora (Gratwhol et al. 2012).

TABLA 4. Modelos predictivos PAM y del EBMT

PAM Score	EBMT Score
Edad	Edad
Tipo de donante	Tipo de donante
Riesgo de la enfermedad de base	Riesgo de la enfermedad de base
Tipo e intensidad de acondicionamiento	Tiempo del diagnóstico al trasplante
DLCO	Donante femenino, paciente masculino
FEV1	-
Cifra de creatinina	-
Niveles de ALT	-

En resumen, a pesar del elevado número de factores de riesgo para presentar complicaciones post-TPH identificados y del desarrollo de modelos predictivos, la selección de pacientes sigue siendo, a día de hoy, altamente mejorable. Como se ha comentado, los dos modelos predictivos de mayor repercusión, explican menos del 70% de los resultados del procedimiento, por lo que parece que este será un campo de investigación de largo recorrido en los próximos años. Recientemente, se demostró que la combinación de algunos de estos modelos permite mejorar su capacidad predictiva individual (Barba et al. 2014). Sin embargo, para el desarrollo de estos modelos, y en especial de los que incluyan comorbilidades, es imprescindible profundizar en los factores individuales para optimizar las definiciones y el reconocimiento de sus implicaciones. Solo de esta forma será posible construir modelos de alta solidez que mejoren la selección de candidatos y que sean aceptados internacionalmente.

3.3 La función hepática en el alo-TPH

3.3.1 La función hepática en los pacientes candidatos a trasplante

3.3.1.1 Generalidades

En el apartado anterior se han detallado los principales factores individuales y modelos pronósticos y, en especial, el papel de las comorbilidades en el desarrollo de complicaciones en el alo-TPH. En el caso particular del alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida, la importancia de la evaluación y el manejo de las toxicidades orgánicas (ya sea pre o post-trasplante) resulta esencial, ya que por las características de los pacientes, estas suelen ser más frecuentes y graves.

Varios estudios centrados en comorbilidades han demostrado que las alteraciones hepáticas constituyen una de las toxicidades orgánicas más frecuentes en los candidatos a un TPH (Sorrer et al. 2005; Xhaard et al. 2008) y llegan a afectar entre un 20% y un 38% de los pacientes. Las principales causas de las alteraciones hepáticas pre-TPH son:

1. Toxicidades derivadas de los tratamientos previos de la enfermedad de base. Principalmente por quimioterápicos clásicos, aunque también por otros tratamientos como los inhibidores de las tirosina cinasas utilizados en la LMC o anticuerpos monoclonales como el gemtuzumab-ozogamicin usado en la LMA.
2. Toxicidades por otros fármacos no anti-neoplásicos. Pueden ser fármacos introducidos durante el tratamiento de la enfermedad de base (como algunos antifúngicos) o fármacos prescritos antes del diagnóstico de la enfermedad de base para el tratamiento de otras patologías (anticonvulsivantes, antidepresivos...) (DeLeve. 2007).
3. Sobrecarga férrica derivada de las transfusiones durante el tratamiento de la enfermedad. Esta situación es relativamente frecuente en los pacientes con

síndromes mielodisplásicos y leucemias agudas, que tienen una elevada necesidad transfusional durante el diagnóstico y tratamiento de sus enfermedades. Sin embargo, el impacto de la sobrecarga férrica, concretamente de los niveles elevados de ferritina en sangre, también se ha demostrado en los pacientes con neoplasias linfoides (Barba et al. 2013).

4. Otras causas no relacionadas con la enfermedad y su tratamiento. Por ejemplo, hepatitis virales (VHB, VHC) y la hepatopatía alcohólica.

3.3.1.2 Evaluación de la función hepática

La evaluación de la función hepática pre-TPH se engloba dentro de la valoración general de todo paciente potencialmente candidato a recibir un alo-TPH. La evaluación de la función hepática en el paciente candidato a TPH debe incluir los siguientes puntos:

- a.) Historia clínica y exploración física: la intención es identificar patología hepática ya diagnosticada o extraer una sospecha diagnóstica en base a los hallazgos encontrados. En primer lugar se debe preguntar por los antecedentes personales y familiares de enfermedades hepáticas, con un especial énfasis en las infecciones por virus hepatotropos y en enfermedades familiares como la hemocromatosis y el síndrome de Gilbert. También se debe indagar sobre el consumo de bebidas alcohólicas tanto el consumo diario como los llamados grandes consumidores esporádicos o de “fin de semana”, intentando cuantificar su consumo en gramos/día. También es importante preguntar por el consumo de fármacos y otros tóxicos y evaluar el potencial hepatotóxico de cada uno de ellos. Los antecedentes de viajes a países con infecciones endémicas y los antecedentes de hemorragias digestivas también deben formar parte de la anamnesis.

En la exploración física se buscarán estigmas de hepatopatía crónica como la ictericia cutáneo-mucosa, circulación colateral en el abdomen, teleangiectasias y los derivados del consumo crónico de alcohol (hipertrofia parotídea, rinofima, contracturas de Dupuytren).

b.) Analítica: Los parámetros más utilizados para la evaluación de la función hepática y son:

1. Transaminasas: AST y ALT, como marcadores de citolisis. Estas enzimas son indicadores bastante sensibles del daño celular hepático. ALT se produce casi en exclusiva en el hígado por lo que es un marcador más específico de la función hepática que AST que se produce también en el músculo cardíaco y los riñones (Giboney et al. 2005).
2. Fosfatasa alcalina y la GGT, como marcadores de colestasis. GGT es un marcador de obstrucción del flujo biliar que se encuentra en los hepatocitos y las células del epitelio biliar.
3. Bilirrubina total y directa. Se trata de un producto de la degradación de proteínas que contienen el grupo hemo y es un buen indicador de obstrucción del flujo biliar. La bilirrubina es la principal responsable de la ictericia. Existen múltiples causas de ictericia y no todas ellas relacionadas con la función hepática, como la hemólisis intravascular.
4. Lactato deshidrogenasa LDH, que se eleva en situación de citolisis, hepática o de cualquier otra estirpe.
5. Albúmina y los tiempos de protrombina y de tromboplastina parcial activada, como marcadores de la síntesis proteica hepática.

c.) Serologías y otros marcadores infecciosos: las principales serologías que se recomienda analizar son: AgS VHB, anti-core VHB, VHC, VIH, IgM CMV, IgG CMV,

IgM VEB, IgG VEB, IgM toxoplasma, IgG toxoplasma. Además en los pacientes con serologías positivas de VIH, VHC y VHB (excepto la hepatitis curada) se recomienda la determinación de carga viral de estos virus.

d.) Pruebas de imagen: en general, no suelen utilizarse en los pacientes sin sospecha de enfermedad hepática después de la evaluación por historia clínica, exploración física, analítica y serologías. En los pacientes que presenten alteraciones se debe proceder en función de cada caso y en contacto con un especialista en hepatología. La ecografía hepática puede ser una buena opción inicial para valorar la presencia de cambios sugestivos de daño hepático crónico o lesiones ocupantes de espacio. La resonancia nuclear magnética T2* es una exploración útil en los pacientes con sospecha de sobrecarga férrica, para determinar y cuantificar el depósito férrico en el hígado (Armand et al. 2011).

e.) Biopsia hepática. Tampoco se considera una prueba rutinaria. De hecho su uso es muy minoritario en los pacientes candidatos a alo-TPH aunque puede ser útil cuando los otros puntales del diagnóstico no permiten llegar a una conclusión definitiva sobre la alteración hepática que sufre el paciente (Strasser et al. 1999). Se trata de una prueba agresiva no exenta de complicaciones, por lo que se reserva para aquellos casos que se consideren imprescindibles. El abordaje transparietal es el más sencillo, barato y el que permite obtener una muestra mejor. Sin embargo, resulta el más cruento por el riesgo de infecciones y, sobre todo, de complicaciones hemorrágicas. Por ello, en los pacientes no candidatos a un abordaje transparietal se opta por la vía transyugular que permite realizar una biopsia hepática en pacientes con trombopenia severa y alteraciones de la coagulación, con un riesgo aceptable de complicaciones (Carreras et al. 1993). Algunas indicaciones de biopsia hepática previa al trasplante son la confirmación

de cirrosis hepática, la exclusión de infiltración hepática por la enfermedad de base y la determinación de focos de hematopoyesis extramedular en los pacientes con mielofibrosis.

2.3.1.2 *Implicaciones de las alteraciones hepáticas pre-TPH*

Las alteraciones hepáticas previas al trasplante tienen un reconocido efecto en el desarrollo de complicaciones del procedimiento y son un factor de riesgo de mortalidad. De hecho, 2 de las 17 categorías incluidas en el HCT-CI recogen diferentes enfermedades hepáticas y grados de hepatopatía. Además, la categoría *enfermedad hepática severa* es la que se asoció a un mayor riesgo de mortalidad relacionada con el tratamiento, por encima de otras como las alteraciones cardíacas o renales, que en la práctica clínica reciben mayor atención de los facultativos.

Implicaciones de la hepatopatía en los resultados concretos del trasplante

En general, los pacientes con alteraciones hepáticas previas al trasplante tienen un riesgo aumentado de presentar:

- Toxicidad farmacológica precoz o tardía que puede afectar tanto al hígado como a otros órganos.
- Reactivación o adquisición de infecciones que pueden comprometer al paciente
- Desarrollo de complicaciones hepáticas, como el SOSH, durante el procedimiento
- Aumento del riesgo de complicaciones hemorrágicas por defecto en la síntesis hepática de factores de la coagulación.
- En general, dificultar el manejo y tratamiento de cualquier complicación que se produzca durante el trasplante

Las alteraciones hepáticas como contraindicación de trasplante

Con la introducción de los acondicionamientos de intensidad reducida, el número de contraindicaciones formales para indicar un alo-TPH se ha ido reduciendo. Respecto a las alteraciones hepáticas no existen contraindicaciones formales para indicar un alo-TPH. Sin embargo, existe cierto consenso en que los pacientes con cirrosis hepática evolucionada (grado B y C según la escala de Child-Pugh) o con hepatocarcinoma activo, no deberían recibir un alo-TPH (Strasser et al. 1999). Sin embargo, existe alguna experiencia de alo-TPH en pacientes con cirrosis evolucionada con resultados satisfactorios (Hamaki et al. 2003).

Las hepatitis por VHB y VHC, incluso las formas activas, no son *per se* contraindicaciones para recibir un alo-TPH. De hecho, un estudio del EBMT (Locasciulli et al. 1994) llevado a cabo hace algunos años mostró que la prevalencia de HbS Ag y de anti-VHC en los receptores de un TPH era del 3,5% y 5%, respectivamente. Sin embargo, en algunos países esta prevalencia podría ser incluso mayor (Idilman et al. 2003). Varios estudios han demostrado la viabilidad del alo-TPH en los pacientes infectados por VHB o VHC aunque el riesgo de reactivación del virus en las hepatitis crónicas, el aumento de carga viral y el empeoramiento de las hepatitis activas no son en absoluto despreciables (Matsue et al. 2009). Además, el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma a los 20 años de un alo-TPH en pacientes con infección por el VHC es superior al 20% (Peffault de Latour et al. 2004).

3.3.2 Estrategias de protección hepática en el periodo peri-trasplante

En la última década se han dedicado grandes esfuerzos para intentar preservar la función hepática y disminuir el riesgo de complicaciones en el periodo post-trasplante. La mayoría de ellas se basan en el uso durante el periodo peri-trasplante de fármacos

con capacidad hepato-protectora en otras enfermedades y que se han ensayado en el contexto del alo-TPH.

Algunas de las estrategias analizadas se recogen a continuación:

- **N-acetil-L-cisteína.** Este antioxidante, usado habitualmente como agente mucolítico, favorece la estimulación de la síntesis de glutatión, la eliminación de radicales libres y la proliferación de fibroblastos (Sekharam et al. 1998). Por todo ello, se ha usado, también, como antídoto para la sobredosis de paracetamol. En el contexto del TPH, existe cierta experiencia como tratamiento del SOSH y de la toxicidad hepática inducida por busulfan, aunque la evidencia para su uso como tratamiento es bastante limitada (Sjoo et al. 2003). En base a esta experiencia el grupo del Instituto Karolinska llevó a cabo un ensayo clínico randomizado comparando el uso de N-acetil-L-cisteína por vía oral con placebo en pacientes que desarrollaban alteración incipiente de la función hepática (Barkholt et al. 2008). El uso precoz del fármaco no demostró ningún beneficio en términos de elevación de bilirrubina sérica (objetivo primario), recuperación hematopoyética, prevención de SOSH, desarrollo de EICR, ni en supervivencia. Por ello, la conclusión del estudio fue que el uso de N-acetil-L-cisteína en los pacientes con alteración hepática incipiente durante el trasplante no aportaba ningún beneficio.
- **Heparina.** El uso de heparina también se ha evaluado en varios estudios. Su fundamento se basa en que la heparina podría disminuir el riesgo de microtrombosis y veno-oclusión a través de sus propiedades anticoagulantes y reduciría el riesgo de SOSH. Al inicio de los años 1990, un estudio randomizado comparando el uso de heparina sódica con placebo mostró una reducción del riesgo de SOSH en el grupo que recibía heparina (Attal et al. 1992). Años más

tarde, un estudio retrospectivo (Simon et al. 2001) mostró una reducción del riesgo de SOSH en los pacientes que habían recibido varias estrategias de prevención (la mayoría incluían heparina de bajo peso molecular) respecto a una cohorte histórica sin tratamiento profiláctico. Estos trabajos motivaron el desarrollo de estudios prospectivos. Cabe destacar que las características de los pacientes incluidos en estos estudios (la mayoría trasplantados en los años 1980) no son comparables con los de hoy en día en términos de regímenes de acondicionamiento ni en el control farmacocinético de busulfan. Inicialmente, dos estudios fase 2 (Forrest et al. 2003; Batsis et al. 2006) mostraron la seguridad del uso de heparinas de bajo peso en el contexto del alo-TPH y una baja incidencia de SOSH en los pacientes que las recibían. Sin embargo, no existen estudios aleatorizados amplios que confirmen estos resultados. Por ello, y por la disminución del riesgo de SOSH con los nuevos acondicionamientos de toxicidad reducida, existen dudas sobre la efectividad de la heparina de bajo peso molecular para disminuir el riesgo de SOSH en el alo-TPH del siglo XXI.

- **Ácido ursodeoxicólico.** Este ácido biliar hidrofílico se encuentra en proporciones muy reducidas en el líquido biliar normal. Al contrario que los ácidos biliares hidrofóbicos, tiene propiedades protectoras para las células hepáticas parenquimatosas, estabilizando la membrana del hepatocito y reduciendo la liberación de citocinas inflamatorias como el TNF- α y Il-21 α . También se le han atribuido propiedades inmunomoduladoras aunque fisiopatológicamente no se conoce bien este mecanismo (Yoshikawa et al. 1992). Su uso más habitual es en la cirrosis biliar primaria y en el trasplante hepático. En el alo-TPH, varios estudios han analizado su efectividad como fármaco “hepato-protector”, todos ellos en el contexto del acondicionamiento

mieloablativo. El mayor estudio randomizado (Ruutu et al. 2002) demostró un menor riesgo de desarrollar toxicidad hepática, EICR y de MRT en los pacientes que recibieron profilaxis con ácido ursodeoxicólico respecto a los que recibieron placebo. Recientemente, los mismos investigadores han publicado la actualización del estudio con un largo periodo de seguimiento de los pacientes en los que se seguía demostrado el efecto beneficioso del fármaco (Ruutu et al. 2014). Sin embargo, otros estudios similares no confirmaron este beneficio (Park et al. 2002). Finalmente, un metanálisis que incluía 824 pacientes de 6 estudios comparativos (4 randomizados) confirmó una reducción del riesgo de SOSH y de la MRT, aunque no de la mortalidad global, en el grupo que recibía ácido ursodeoxicólico. En base a estos resultados, su uso como profilaxis debería ser considerada en pacientes que reciban un alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo. De hecho, el grupo de Seattle identificó el uso de ácido ursodeoxicólico como uno de los principales responsables de la mejoría de los resultados del alo-TPH a lo largo de los años (Gooley et al. 2010). Sin embargo, en el caso del alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida no existe evidencia que apoye o contraindique su uso.

- **Defibrotide.** Este fármaco, pilar fundamental en el tratamiento del SOSH, ha sido también evaluado como tratamiento profiláctico. Se trata de una combinación de oligo-deoxi-ribonucleótidos sintetizados a partir de la despolimerización de ADN genómico obtenido a partir de la mucosa intestinal porcina (Dignan et al. 2007).
- Induce efectos antitrombóticos y profibrinolíticos *in vitro* e *in vivo* aunque su mecanismo de acción en el contexto del SOSH dista de estar claro (Kornblum et al. 2006). Algunos estudios con un número relativamente pequeño de pacientes demostraron una reducción del riesgo de SOSH respecto a controles históricos

(Chalandon et al. 2004; Corbacioglu et al. 2006) en los pacientes que recibían este fármaco. Recientemente, un estudio randomizado fase 3 con un elevado número de pacientes pediátricos demostró un beneficio de la profilaxis con defibrotide en términos de reducción de la incidencia de SOSH y también de supervivencia global (Corbacioglu et al. 2012). Por ello, se debería considerar el uso de defibrotide profiláctico en pacientes pediátricos que reciban un alo-TPH aunque falta evidencia sobre su utilidad en pacientes adultos y en el alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.

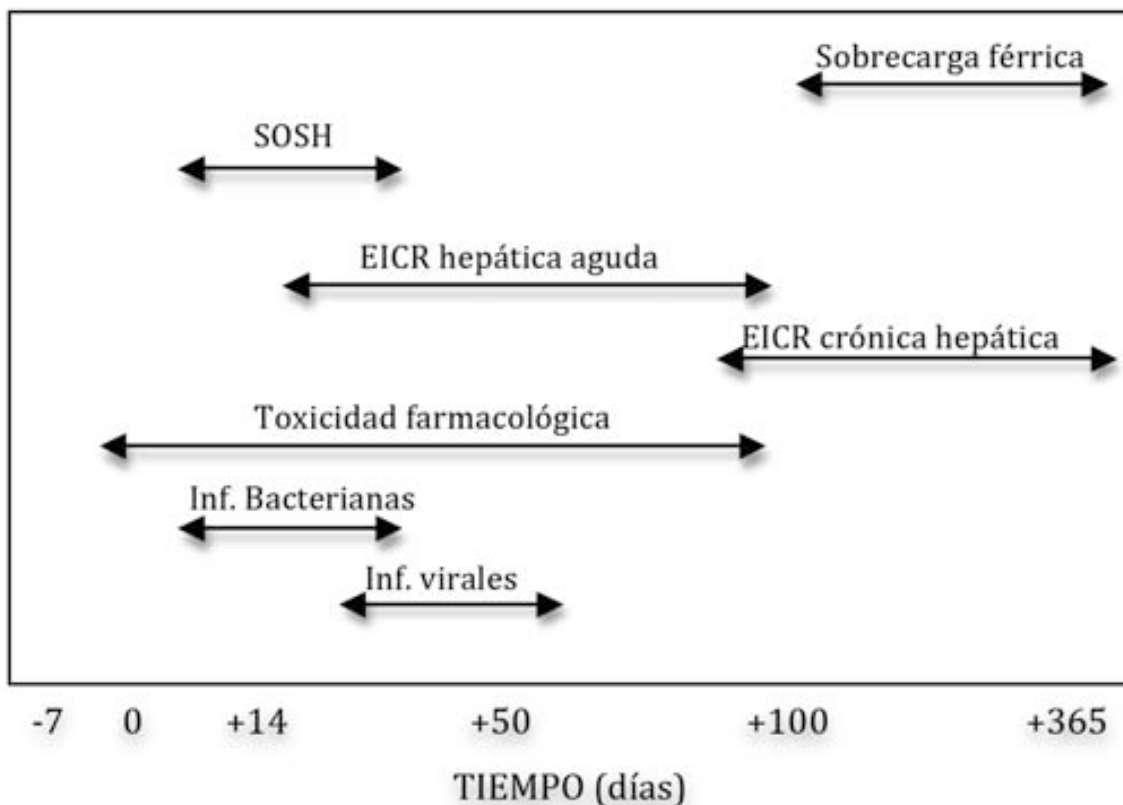
- **Otras estrategias.** El uso de antitrombina III en alteraciones hepáticas incipientes ha sido evaluado en un ensayo clínico en pacientes pediátricos (Hausman et al. 2006), en base a los resultados de estudios unicéntricos previamente publicados. Sin embargo, su uso no demostró una reducción de la incidencia de SOSH comparado con un grupo control.

La profilaxis del SOSH con prostaglandina E2, un vasodilatador con propiedades protectoras del endotelio, también fue evaluado en un ensayo clínico (Bearman et al. 1993), sin demostrar disminución del riesgo de desarrollar SOSH y con una toxicidad no despreciable. Del mismo modo, la capacidad de protección hepática de otras moléculas como la glutamina y el ácido eicosapentaenoico han sido evaluadas con resultados no concluyentes (Brown et al. 1998; Takatsuka et al. 2001).

3.3.3 Complicaciones hepáticas del alo-TPH

Existe una gran variabilidad de alteraciones hepáticas en el alo-TPH. La mayoría tienen unas características clínicas y fisiopatológicas propias, así como un tiempo de aparición en el periodo post-trasplante (Figura 6). Sin embargo, muy a menudo, su diagnóstico diferencial no resulta sencillo.

FIGURA 6. Principales complicaciones hepáticas en función del tiempo de aparición en el periodo post-trasplante (adaptado de Tuncer et al. 2012)



3.3.3.1 Enfermedad del injerto contra el receptor hepática

La causa más frecuente de alteración hepática en el alo-TPH es la EICR. Mientras que la mayoría de procesos que afectan al hígado durante el alo-TPH están relativamente circunscritos en un periodo de tiempo, la afectación por EICR (en sus formas hiperaguda, aguda, aguda tardía, *overlap* y crónica) puede ocurrir en cualquier momento

desde la primera semana hasta meses e incluso años de la infusión de las células progenitoras.

Clásicamente, se reconocen dos grandes entidades sindrómicas de presentación: la forma aguda y la crónica.

a.) EICR aguda

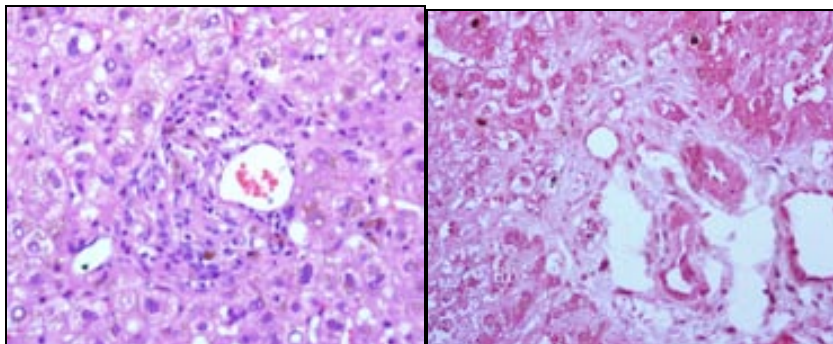
La EICR aguda hepática se produce en el contexto de la enfermedad sistémica que puede afectar, a demás, a la piel y al tracto gastro-intestinal. Es el órgano menos comúnmente afectado de los tres y su presentación aislada, sin afectación de piel o tracto gastro-intestinal, es poco frecuente. Sin embargo, es, junto a la intestinal, la que comporta una mayor gravedad y, si resulta el primer órgano afectado, la evolución de la EICR aguda parece ser más agresiva que si la forma de debut es gastrointestinal o cutánea (Robin et al. 2009). La presentación clínica consiste en ictericia, prurito y ocasionalmente hepatomegalia no dolorosa en las primeras semanas del trasplante, en relación, normalmente, con semiología de EICR aguda en otras localizaciones. En fases avanzadas se produce una clínica derivada del fallo hepático severo con ascitis, alteraciones de la coagulación y encefalopatía. Analíticamente se observa una elevación de bilirrubina, predominantemente directa, transaminasas, fosfatasa alcalina y GGT, así como una disminución de la albúmina sérica y alteraciones de la coagulación como reflejo del déficit de síntesis hepática. La severidad de la EICR aguda hepática se mide con los ya mencionados criterios de Glüksberg, en función de los niveles de bilirrubina sérica.

La fisiopatología de la EICR aguda ha sido brevemente comentada previamente y no es materia del presente trabajo. Sin embargo, es importante resaltar algunas de las especificidades de la EICR aguda hepática con respecto a la de los otros órganos. La más importante es el papel secundario que juegan las moléculas de HLA de clase II en el

desarrollo, al menos en sus inicios, de la EICR hepática. En el hígado normal, la expresión de moléculas de clase II es baja y corre, casi exclusivamente, a cargo de las células de Kupffer. Por ello, parece que la expresión de antígenos responsable de la EICR aguda hepática es multifactorial e implica moléculas de clase I, clase II, antígenos menores de histocompatibilidad expresados por células epiteliales biliares (Nonomura et al. 1989) y otros mecanismos como moléculas de adhesión (Burnier et al. 2010) o virus (Fujii et al. 1994). La fase efectora de la EICR aguda parece tener también sus particularidades ya que además de la infiltración por linfocitos y monocitos, las células de Kupffer (derivadas del donante y/o del receptor) también juegan un papel determinante en la regulación de lipopolisacáridos liberados en el tracto intestinal (Fox et al. 1989).

Histopatológicamente, la lesión más característica es la infiltración linfocitaria y la consecuente destrucción de las células epiteliales de los conductos biliares (Shulman et al. 1988) (Figura 7), aunque pueden presentarse varios otros fenómenos tanto en los conductos biliares como en el tracto portal (Tabla 5).

FIGURA 7. EICR. *Espacio porta con mínimo infiltrado linfocitario sin evidencia de ducto biliar. Células en fase de citolisis y esteatosis. Balonización del endotelio*



Dentro de la EICR aguda existe una forma de presentación particular más precoz y agresiva. Esta forma, llamada EICR hiperaguda es una entidad de rápida evolución y a

menudo fulminante que consiste, en el caso del hígado, en la destrucción masiva del parénquima hepático en los primeros días del trasplante, incluso antes de la recuperación de neutrófilos en sangre periférica. Fue inicialmente descrita en los primeros tiempos del alo-TPH, cuando no se usaba inmunosupresión profiláctica (Sullivan et al. 1986), aunque se ha identificado también en los trasplantes convencionales que se realizan actualmente y puede llegar a representar un 25% de las formas de EICR aguda. A nivel hepático, la frecuencia y el grado máximo de afectación parecen similares entre la forma hiperaguda y la aguda (Saliba et al. 2007). Se desconocen en gran medida el mecanismo fisiopatológico y su traducción histológica, pero parece que los efectos directos de algunas citocinas inflamatorias generadas a partir de la toxicidad directa del tratamiento de acondicionamiento podrían jugar un papel especialmente importante en esta entidad (Morita-Hoshi et al. 2010).

El diagnóstico diferencial de la EICR aguda incluye multitud de entidades que se presentan en los primeros meses del trasplante y que se discutirán a continuación, como el SOSH, la toxicidad farmacológica y las infecciones. El diagnóstico definitivo se obtiene mediante el estudio de tejido hepático obtenido mediante biopsia aunque está no suele ser imprescindible si la presentación clínica es clara y existe evidencia histológica de EICR aguda en otros órganos (Ferrara et al. 2005). Además, los hallazgos de la biopsia hepática en fases iniciales de la enfermedad como la apoptosis de hepatocitos y la inflamación en el tracto portal son poco específicas. Sin embargo, la biopsia hepática puede ser útil para excluir otros diagnósticos de presunción o para confirmar otras entidades que pueden coexistir con la EICR aguda como la sobrecarga férrica o las infecciones virales (Duarte et al. 2005).

TABLA 5. Hallazgos histológicos en la EICR hepática. Adaptado de Ferrara et al. (ed)

Entidad Clínica	Hallazgos histopatológicos
EICR aguda	Conductos biliares
	Infiltración linfocitaria
	Pleomorfismo nuclear
	Eosinofilia
	Destrucción de conductos segmentarios
	Tracto portal
	Infiltración por células mononucleadas, endotelitis
Apoptosis de hepatocitos	
Degeneración vacuolar de hepatocitos	
Colestasis centrolobulillar	
EICR crónica	Conductos biliares
	Infiltración linfocitaria y eosinofilia
	Pleomorfismo nuclear
	Tracto portal
	Infiltración por células mononucleadas
	Escasa apoptosis de hepatocitos
	Colestasis
Fibrosis (en casos avanzados)	

No existe un tratamiento propio de la EICR aguda hepática. En general, se requiere tratamiento inmunosupresor sistémico, incluyendo la primera línea clásica con metilprednisolona a 1-2mg/kg/día. La adición de ácido ursodeoxicólico al tratamiento inmunosupresor ha sido evaluada (Fried et al. 1992) aunque sin un claro beneficio.

b.) EICR crónica

Hasta un 60% de los receptores de un alo-TPH puede presentar alguna forma de EICR crónica. Representa la primera causa de alteración hepática en los pacientes con larga

supervivencia después de un alo-TPH y, aunque no es frecuente, puede ocurrir en ausencia de otras manifestaciones de EICR (Gholson et al. 1989). La presentación clínica es variable aunque habitualmente consiste en alteraciones analíticas hepáticas en pacientes con manifestaciones de EICR crónica en otras localizaciones. Las alteraciones hepáticas más frecuentes incluyen: a) elevación asintomática de ALT, GGT y fosfatasa alcalina b) ictericia colestásica lentamente progresiva y c) daño hepatocelular agudo (Strasser et al. 2000) que puede simular una hepatitis aguda.

Histopatológicamente, existen bastantes similitudes entre la EICR aguda y crónica. Los hallazgos más característicos son la infiltración linfocitaria de los espacios porta y el daño de conductos biliares interlobulillares de pequeño tamaño (Vierling et al. 1992). A diferencia de la EICR aguda el daño hepatocelular es mínimo. En fases avanzadas se puede observar pérdida de conductos biliares, colestasis severa con degeneración de hepatocitos y, eventualmente, fibrosis (Shulman et al. 2006).

El diagnóstico de confirmación de la EICR hepática requiere confirmación histológica ya que las alteraciones analíticas y clínicas son del todo inespecíficas. Considerando las similitudes anatomopatológicas entre las formas de EICR hepática aguda y crónica, su distinción requiere, también, la presencia de una manifestación clínica distintiva de EICR crónica en algún otro órgano (Filipovich et al. 2005). Además, la biopsia es útil para descartar otros procesos acompañantes como la sobrecarga férrica. Dado que los pacientes suelen presentar una relativa estabilidad clínica y unas cifras aceptables de plaquetas y pruebas de coagulación, el uso de la biopsia hepática está más extendido en el diagnóstico de la EICR crónica que en la aguda.

El tratamiento de la EICR crónica hepática es la inmunosupresión sistémica aunque no suele iniciarse tratamiento si las alteraciones son leves o moderadas y no existe afectación de otros órganos. El trasplante hepático, del mismo o distinto donante que los

progenitores hematopoyéticos, ha sido practicado en algunos casos de EICR refractaria al tratamiento (Shimizu et al. 2006) aunque no existe consenso entorno al papel que debe jugar en esta forma de alteración hepática crónica.

3.3.3.2 *Síndrome de obstrucción sinusoidal hepático*

Esta complicación hepática es una de las más clásicas en el trasplante de progenitores hematopoyéticos, aunque no es exclusiva de este, ya que se ha descrito en otras situaciones como en el tratamiento de inducción de las leucemias agudas (Burnett et al. 2012). Su incidencia en el alo-TPH es muy variable y depende de diferentes factores de riesgo como el tipo de acondicionamiento, su intensidad y la presencia de alteraciones hepáticas previas al trasplante. Algunas series han descrito incidencias superiores al 50% con acondicionamientos con irradiación corporal total (McDonald et al. 1993) mientras que en el trasplante de intensidad reducida su incidencia parece ser cercana a cero (Hogan et al. 2004). A pesar de los avances alcanzados en los últimos años, entre los que se cuentan una mejor dosificación y monitorización de algunos fármacos como el busulfan (Martino et al. 2005) o una mejor comprensión de las interacciones entre los distintos fármacos implicados en el acondicionamiento (Cantoni et al. 2011), la incidencia del SOSH no ha sufrido grandes variaciones (Coppell et al. 2010).

El origen fisiopatológico de la entidad parece situarse en la acción de toxinas producidas como consecuencia del tratamiento de acondicionamiento sobre el sinusoides hepático (Shulman et al. 1992), que resulta más sensible a los efectos tóxicos de algunos fármacos que los propios hepatocitos. La destrucción del endotelio del sinusoides seguida de la invasión de eritrocitos del espacio de Disse (DeLeve et al. 1999) desencadena la desestructuración del sinusoides y la posterior oclusión del flujo y finalmente la fibrosis. La oclusión de las vénulas hepáticas parece producirse más tardíamente y no es

necesaria para el desarrollo del síndrome (Shulman et al. 1994). Por ello, la denominación clásica de enfermedad veno-oclusiva resulta inadecuada.

La presentación clínica consiste en el desarrollo en los primeros 20-30 días del TPH de hepatomegalia dolorosa, aumento de peso e ictericia; síntomas que, a su vez, constituyen los criterios diagnósticos de la enfermedad (Tabla 6). La severidad ha sido evaluada clásicamente mediante una clasificación retrospectiva (McDonnald et al. 1993) por lo que no se puede aplicar a un paciente concreto. Por ello, es preferible el desarrollo de fallo multiorgánico como un marcador parcialmente prospectivo de severidad.

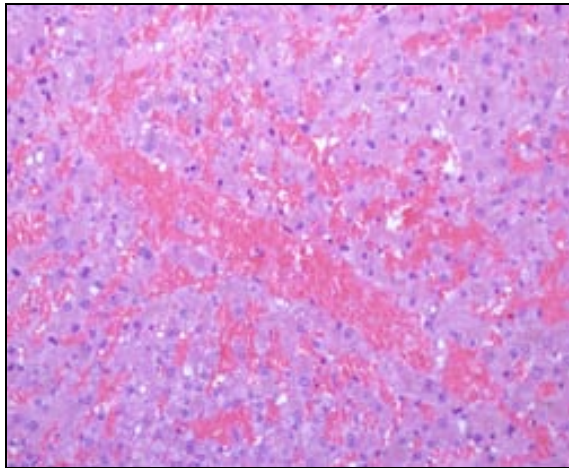
Analíticamente se produce un aumento marcado de la bilirrubinemia directa inicialmente aislada, aunque en fases más avanzadas se pueden producir elevación de las transaminasas que suelen indicar la necrosis isquémica del hepatocito por la fibrosis sinusoidal que sigue a la inflamación tóxica. Varias proteínas plasmáticas se han implicado en el diagnóstico del SOSH, como algunas moléculas anticoagulantes (proteína C y antitrombina III) y marcadores endoteliales (factor von Willebran y el inhibidor 1 del activador del plasminógeno –PAI-1, en sus siglas en inglés-). De hecho, niveles de PAI-1 inferiores a 120ng/ml han demostrado tener un fuerte valor predictivo negativo para el diagnóstico del SOSH (Lee et al. 2002).

Estudios de imagen como la ecografía abdominal pueden ser útiles para demostrar la presencia de hepatomegalia, ascitis, edema periportal y la inversión del flujo hepatopetal de la vena porta mediante Doppler (Hashiguchi et al. 2005). Esta última alteración, resulta relativamente específica del SOSH aunque se detecta en una minoría de casos, especialmente en fases precoces.

Finalmente, la biopsia hepática puede dar el diagnóstico definitivo aunque el abordaje transparietal no resulta adecuado por el alto riesgo de complicaciones (mayoritariamente hemorrágicas) y es necesario un abordaje transyugular. Además, la

demora entre la indicación de biopsia y el resultado histopatológico definitivo suele obligar a iniciar un tratamiento de forma empírica antes de tener la confirmación diagnóstica. Este procedimiento permite, además, la medición de las presiones venosas hepáticas que pueden ayudar al diagnóstico, aunque tiene el inconveniente de requerir personal especializado y que la muestra de tejido obtenida suele ser de pequeñas dimensiones, lo que dificulta el diagnóstico anatomopatológico (Kis et al. 2013).

FIGURA 8. SOSH. *Vena centrolobulillar y sinusoides hepáticos con marcada dilatación y congestión.*



A pesar de las diferentes exploraciones complementarias, el diagnóstico y el inicio de tratamiento se siguen rigiendo por los criterios clínicos clásicos (Tabla 6). El pilar fundamental del tratamiento de la SOSH es el tratamiento de soporte, ya que con un correcto manejo, una proporción importante de los casos se pueden resolver sin un tratamiento dirigido. Sin embargo, cuando se alcanza la fase de fallo multiorgánico, la mortalidad supera ampliamente el 80% (McDonnald et al. 1993). Un correcto control del balance hidroelectrolítico, el mantenimiento del flujo renal y la eliminación de líquido ascítico mediante paracentesis son esenciales en las primeras horas. Los pacientes que presentan elevación de las transaminasas y de la presión portal (>20mmHg) y aquellos

con afectación de otras funciones orgánicas como la renal o la pulmonar, suelen requerir tratamiento dirigido. Los mejores resultados se han conseguido con la administración de defibrotide endovenoso por lo que es el fármaco más comúnmente utilizado. Estudios de comparación de dosis han determinado la posología de 25mg/kg para el tratamiento de esta complicación (Richardson et al. 2010).

TABLA 6. Criterios diagnósticos del SOSH

Criterios Seattle (< 30 días)	Criterios Baltimore (<21 días)
1. Bilirrubinemia > 2mg/dL	1. Bilirrubinemia > 2mg/dL
2. Hepatomegalia dolorosa	2. Hepatomegalia (normalmente dolorosa)
3. Ascitis con o sin aumento de peso >2% del basal	3. Ascitis
-	4. Aumento de peso >5% del basal
Deben cumplirse ≥ 2 criterios	Debe cumplirse obligatoriamente el criterio 1 y dos de los otros

3.3.3.3 Daño hepático inducido por fármacos (DHIF)

La toxicidad hepática por fármacos en el curso del alo-TPH depende de dos factores principales: el fármaco en cuestión y el individuo que lo recibe.

Una gran cantidad de fármacos pueden producir alteración de la función hepática. Algunos de los más utilizados en el paciente trasplantado, como citostáticos, inmunosupresores y antifúngicos, producen daño hepático de manera muy significativa. En el caso del alo-TPH con acondicionamientos de toxicidad reducida las dosis de citostáticos con reconocida capacidad hepatotóxica, como el busulfan, son menores que en los alo-TPH mieloablativos (Giralt et al. 2009). Sin embargo, la mayor edad, comorbilidades y número de tratamientos previos de estos pacientes contribuyen a que la toxicidad farmacológica sea un problema principal, también en esta modalidad de trasplantes. La forma de presentación del DHIF suele ser variable en función del agente implicado. Por ejemplo, los antifúngicos triazólicos producen principalmente colestasis

con aumento de la bilirrubina y la GGT en el perfil hepático de la analítica (Davies et al. 1998). Por otro lado, los inhibidores de calcineurina disminuyen la circulación biliar por los canalículos y producen, ciclosporina más frecuentemente que tacrolimus, colestasis. Las características de la hepatotoxicidad producida por algunos de los fármacos no quimioterápicos más utilizados en el alo-TPH se recogen en la tabla 7.

Sin embargo, la toxicidad hepática de un fármaco concreto no se produce de la misma forma ni intensidad en dos pacientes con edad, comorbilidades, enfermedad y tratamientos previos similares. Existe también una predisposición individual determinada genéticamente. Varios genes implicados en el metabolismo de los fármacos han sido identificados como claves en el desarrollo de toxicidades. Polimorfismos en algunos de ellos como el gen de la metilentetrahidrofolato reductasa, el gen codificante para el receptor de la vitamina D o genes de la familia del citocromo P450 (CYP2B6) se han asociado a un mayor riesgo de toxicidades orgánicas y, en algunos casos, a una menor supervivencia global (Goekkurt et al. 2007; Rocha et al. 2009).

El diagnóstico diferencial de toxicidad farmacológica hepática no resulta sencillo ya que en muchas ocasiones existe más de un posible fármaco causante y es necesario descartar otras causas de hepatopatía. Sin embargo, un buen conocimiento de los eventos tóxicos de los fármacos así como una relación temporal entre la instauración del fármaco y la alteración hepática pueden contribuir al proceso diagnóstico. Con una buena vigilancia y con modificaciones del tratamiento, las alteraciones hepáticas causadas por la mayoría de fármacos suelen ser moderadas en intensidad y transitorias en el tiempo (Sakai et al. 2009).

TABLA 7. Toxicidades hepáticas de algunos de los fármacos no citostáticos más comúnmente empleados durante el alo-TPH

Fármaco	Mecanismo tóxico	Presentación
Antifúngicos triazólicos (voriconazol, posaconazol)	Relacionado con la metabolización hepática	Hepatitis, colestasis e insuficiencia hepática
Equinocandinas	Mecanismos relacionados con su metabolización hepática. Sobre todo, caspofungina.	Insuficiencia hepática y hepatitis
Fluoroquinolonas	Mecanismo poco conocido.	Hepatitis colestática aguda, necrosis hepática aguda
Cefalosporinas	En las de 3ª generación. Mecanismo poco conocido.	Raramente se dan las anormalidades en la función hepática
Carbapenems	No se han descrito efectos hepatotóxicos	No se han descrito
Trimetoprim-sulfametoxazol	Se asocia a fenómenos de hipersensibilidad. Efecto dosis – dependiente	Ictericia colestática, colestasis crónica
Anfotericina B liposomal		Hepatotoxicidad de grado leve o moderado. Elevación de las fosfatasas alcalinas
Inhibidores de calcineurina	Inhibición del flujo biliar e inhibición de conjugación de los ácidos biliares. Efectos dosis – dependientes.	Colestasis
Rapamicina	Cambios congestivos hepáticos, con dilatación sinusoidal y deserción perivenular de los hepatocitos.	Aumento transaminasas. Ocasionalmente, trombosis de la arteria hepática.
Anticonvulsivantes	Mecanismos inmunológicos.	Necrosis aguda hepatocelular, hepatitis colestática y granulomatosa
Metoclopramida	No se han descrito efectos hepatotóxicos	No se han descrito
AINEs	Posible idiosincrasia metabólica. Dosis – dependiente	Necrosis hepatocelular, reacción colestática con o sin hepatitis y manifestaciones de hipersensibilidad.
Paracetamol	Metabólitos del paracetamol, generados por la sobredosificación, se unen a los grupos tiol de las proteínas de los hepatocitos	Hepatitis aguda
Derivados mórficos	No se han descrito efectos hepatotóxicos	No se han descrito
Ranitidina	Mecanismos inmunológicos	Hepatitis colestática, Infiltración eosinofílica
Omeprazol	Metabolización hepática	Necrosis hepática e insuficiencia hepática en raras ocasiones.

3.3.3.4 Infecciones

Múltiples infecciones pueden producir alteración de la función hepática en el contexto del alo-TPH. Por sus particularidades clínicas e implicaciones terapéuticas, es importante diferenciar las alteraciones causadas por virus de la hepatitis de las causadas por otras causas infecciosas.

a.) Virus de la hepatitis

La gran mayoría de alteraciones hepáticas causadas por los virus de la hepatitis se producen por reactivación de los mismos como consecuencia de la inmunosupresión o, más raramente, por transmisión de sus donantes.

Los pacientes con infección activa por VHB tienen un alto riesgo de presentar hepatitis severa (en ocasiones fulminante) durante el periodo post-trasplante (Hammond et al. 2009) por lo que se recomienda el tratamiento profiláctico con un análogo de nucleósido oral previo al inicio del acondicionamiento y una monitorización estrecha de los niveles de DNA viral en el periodo post-trasplante. La duración de esta profilaxis se encuentra todavía en discusión aunque parece que tiene que ser superior a los 3 meses desde la suspensión del último fármaco inmunosupresor (Hui et al. 2005). Esta estrategia puede ofrecer protección hasta a un 90% de los pacientes. Sin embargo, un 10% de los pacientes con un correcto seguimiento y tratamiento profiláctico pueden desarrollar una hepatitis aguda, normalmente en relación con mutaciones que confieren al virus resistencia farmacológica (Lalazar et al. 2007). La presencia aislada de VHB-anticore, supone un riesgo menor de reactivación y tanto la observación como la profilaxis son estrategias aceptadas. En cualquier caso, ante el desarrollo de hepatitis aguda se debe iniciar el tratamiento de manera precoz.

Respecto al VHC, el riesgo de hepatitis aguda fulminante durante los primeros meses del procedimiento es relativamente bajo. Sin embargo, el riesgo de cirrosis a largo plazo es superior al de los pacientes VHC que no han recibido un alo-TPH y puede llegar a superar el 20% (Peffault de Latour et al. 2004). No existe una profilaxis efectiva para estos pacientes. El uso de IFN- α está contraindicado en el periodo peritrasplante por su toxicidad e interacciones, mientras que ribavirina ha sido utilizada en casos aislados (Tuncer et al. 2012). Existen estudios que sugieren una menor supervivencia de los pacientes VHC positivos incluso de aquellos sin hepatopatía establecida respecto a los VHC negativos (Ramos et al. 2009).

TABLA 8. Principales características de interés de VHB y VHC en el contexto del alo-TPH (Adaptado de Carreras. 2007)

Situación	VHB	VHC
Paciente infectado	TPH no contraindicado	TPH no contraindicado
Donante infectado	TPH no contraindicado	TPH no contraindicado
Riesgo transmisión D-R	30-50%	100%
Riesgo de SOSH	No incrementado*	Incrementado
Hepatitis fulminante	10%	Muy raro
Hepatitis post TPH	Hasta 75%	30%
Riesgo de EICRc hepática	No incrementado	No incrementado
Tratamiento antiviral	Lamivudina, tenofovir	IFN, ribavirina
Supervivencia 10 años	No disminuida	Probablemente disminuida
* Incrementado si hepatopatía crónica		
D-R: Donante-Receptor		

b.) Otras infecciones

La simple presencia de una infección activa, sin necesidad de que esta produzca un shock séptico, puede producir alteraciones hepáticas en el paciente. La hiperbilirrubinemia es frecuente en los pacientes neutropénicos con bacteriemia, en lo que se ha denominado *colangitis lenta* o colestasis por sepsis, aunque también puede

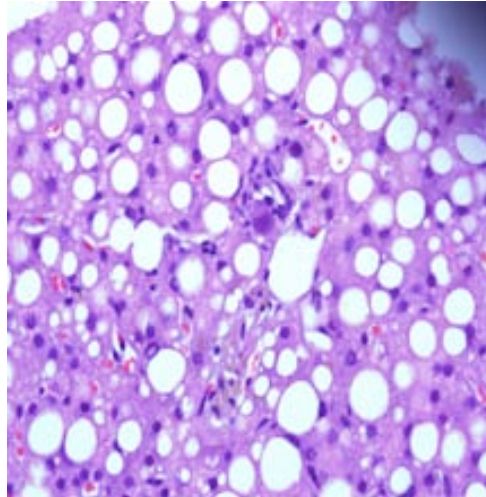
observarse en pacientes con infecciones localizadas. En este caso, la retención de bilirrubina por los hepatocitos parece mediada por Il-6 y TNF α (McDonald. 2010). El cuadro suele ser reversible cuando se controla la causa desencadenante y no tiene un tratamiento específico. Esta entidad puede suponer un factor de confusión en el diagnóstico diferencial de otras alteraciones como el SOSH y la EICR hepática.

Multitud de gérmenes pueden producir alteraciones hepáticas durante el proceso infeccioso. La mayoría, aunque no todas, cursan con fiebre y con alteraciones hepáticas agudas.

En cuanto a las bacterias, la forma clínica más habitual es la *colangitis lenta* por infecciones extrahepáticas mientras que el desarrollo de abscesos hepáticos suele ser poco frecuente, en parte debido al uso sistemático de antibióticos profilácticos.

Múltiples infecciones virales pueden causar alteraciones hepáticas, normalmente en forma de elevación brusca de transaminasas. Algunos de los más frecuentes son el VHS, VVZ, adenovirus y CMV. Por el uso sistemático de profilaxis con aciclovir, las dos primeras causas, asociadas a gran mortalidad en décadas anteriores, son muy poco frecuentes, hoy en día (Sakai et al. 2009). Respecto a CMV, la mayoría de infecciones cursan con elevación de transaminasas, si bien existe una forma particular y de difícil diagnóstico, la infección en la ampolla de Vater, que puede producir elevaciones importantes de la bilirrubina (Hoffman et al. 2004).

FIGURA 9. Infección hepática de origen viral. Lobulillo hepático con esteatosis macrovesicular moderada. Presencia de células con inclusiones virales y mínima respuesta inflamatoria



Respecto a los hongos, tanto levaduras como hongos filamentosos pueden producir alteraciones hepáticas en el periodo post-trasplante. *Candida* puede producir invasión hepática aislada o dentro de una afectación hepatoesplénica. Clásicamente produce elevaciones importantes de fosfatasa alcalina coincidiendo con la recuperación de granulocitos y las pruebas de imagen ponen de relieve múltiples abscesos fúngicos (van Burik et al. 1998). Sin embargo, el uso de profilaxis antifúngica en los receptores de alo-TPH ha disminuido drásticamente la incidencia de estas infecciones. En cuanto a los hongos filamentosos, puede producirse afectación por *Aspergillus*, dentro de una aspergilosis diseminada, aunque la afectación hepática no es común.

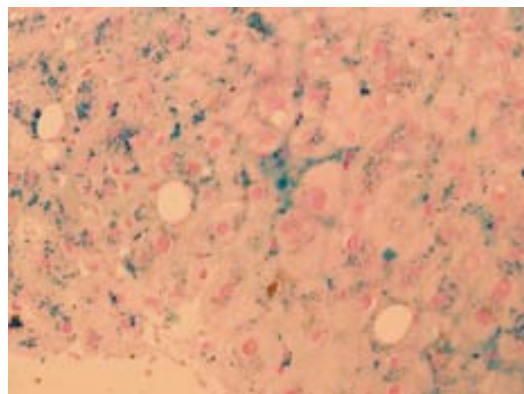
Finalmente, otros gérmenes como *Toxoplasma gondii* pueden producir alteraciones hepáticas, normalmente como consecuencia de una infección diseminada con afectación orgánica múltiple (Martino et al. 2000).

3.3.3.5 Sobrecarga férrica

El elevado número de transfusiones de concentrados de hematíes que reciben la mayoría de los pacientes candidatos a un alo-TPH, contribuye a que muchos de ellos lleguen al trasplante con una importante sobrecarga férrica en su organismo. En el hígado, este exceso de hierro, especialmente la fracción del hierro no unida a transferrina (NTBI, en inglés), produce toxicidad por varios mecanismos. Por un lado, interfiere con la función de las células de Kupffer favoreciendo el desarrollo de infecciones (Altés et al. 2004). Por otro lado, la acción del tratamiento de acondicionamiento sobre la NTBI favorece la producción de radicales libres que actúan como metabolitos tóxicos directos sobre los hepatocitos (Pullarkat et al. 2008).

Esta acumulación de hierro puede ser determinada de forma directa a partir de tejido hepático biopsiado o de imágenes de resonancia nuclear magnética, o de forma indirecta a partir de los niveles de ferritina sérica. Estos últimos han sido, probablemente por su simplicidad en la práctica diaria y a pesar de sus limitaciones, los métodos más utilizados.

FIGURA 10: Hemosiderosis hepatocelular en las células de Kupffer y en los hepatocitos. Mínima esteatosis macrovesicular. Tinción de Perls



La presentación clínica más frecuente es la elevación moderada de transaminasas o marcadores de colestasis. El papel de la sobrecarga férrica como causante de alteraciones hepáticas es difícil de determinar, ya que si bien estudios basados en biopsias hepáticas han determinado la presencia de sobrecarga férrica en más del 50% de ellas, estudios clínicos le atribuyen un papel mucho más marginal como causa principal de la alteración hepática en estos pacientes (Sucak et al. 2008).

El efecto negativo de los niveles altos de ferritina sérica previos al trasplante parecen tener incidencia no solo en el desarrollo de alteraciones hepáticas durante el procedimiento (como el caso del SOSH) (Maradei et al. 2009), sino también en términos de supervivencia y MRT. En el caso de los alo-TPH con acondicionamientos mieloablativos esta incidencia parece bastante clara (Armand et al. 2007; Mahindra et al. 2009). Sin embargo, en el caso de los alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida este efecto adverso ha sido mucho menos estudiado y dista de estar claro. Algunos autores han sugerido que la menor intensidad de acondicionamiento en estas modalidades de trasplante pueda generar una menor producción de metabolitos tóxicos. Sin embargo, nuestro grupo (Barba et al. 2013) ha demostrado recientemente el efecto negativo de los niveles altos de ferritina en los resultados del alo-TIR en una población de más de 200 pacientes con neoplasias linfoides.

3.3.3.6 Otras

Otras entidades que afectan a la función hepática durante el alo-TPH se analizan, a continuación, en formato más breve.

a.) Enfermedad hepática asociada a la nutrición parenteral

En los trasplantes con acondicionamiento de toxicidad reducida, una minoría de pacientes requiere nutrición parenteral total en comparación con los de acondicionamiento mieloablativo (Parker et al. 2002). Sin embargo, entre un 5-10% de los pacientes pueden llegar a recibirla a causa de toxicidad gastrointestinal severa en la fase precoz del alo-TPH o por afectación digestiva de la EICR aguda, entre otras causas (Johansson et al. 2001). Los efectos tóxicos sobre el hígado de la nutrición parenteral han sido bien estudiados desde una perspectiva clínica. Sin embargo, su fisiopatología no es bien conocida, aunque algunos estudios con modelos murinos la han asociado a las alteraciones de la expresión de los genes MDR (*multidrug resistance*) cuyas proteínas codificantes funcionan como transportadores hepáticos (Tazuke et al. 2009). Suele presentarse como elevación de las cifras de bilirrubina, GGT o fosfatasa alcalina. La adición de ciertos lípidos como los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 parece que disminuyen el riesgo de aparición de esta complicación (Fallon et al. 2003). Otra posible estrategia adicional para disminuir estos efectos tóxicos que se ha demostrado útil en un estudio randomizado es limitar al máximo el número de días de nutrición parenteral (Charuhas et al. 1997).

b.) Hepatitis hipóxica

Se produce como consecuencia de una muerte masiva de hepatocitos por hipoxia en el contexto de fenómenos sistémicos como la insuficiencia respiratoria o el shock séptico,

hemorrágico o cardiogénico (Henrion et al. 2003). Analíticamente suele caracterizarse por una elevación muy importante de transaminasas (> 1000 U/L) y se asocia con una alta mortalidad, debido a la gravedad del proceso desencadenante. En un estudio retrospectivo que incluía más de 6000 trasplantes consecutivos, se observó que un 1.4% de los pacientes había desarrollado un pico de AST > 1500 U/L. La segunda entidad más frecuente en este grupo de pacientes (37%) fue la hepatitis hipóxica, con una mortalidad del 88% (Sakai et al. 2009).

c.) Infiltración por neoplasias

En los alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida el riesgo de recaída de la enfermedad de base es mayor que con los acondicionamientos mieloablativos. Por ello, resulta imprescindible considerar la recaída de la enfermedad como una de las posibles causas de enfermedad hepática en el curso de la evolución del trasplante. En general, esta situación es más frecuente en los síndromes linfoproliferativos que en los mieloproliferativos y en aquellos pacientes que han tenido afectación hepática previa por su enfermedad de base, o bien, que presentaban enfermedad activa en el momento de iniciar el tratamiento de acondicionamiento.

Otra entidad neoplásica con características propias que puede afectar al hígado es el síndrome linfoproliferativo asociado al trasplante. A pesar de que el control sistemático de la viremia de VEB y la disponibilidad de anticuerpos monoclonales como rituximab ha hecho disminuir su incidencia y su mortalidad (Fox et al. 2014), continua siendo un problema importante en algunas modalidades de alo-TPH como los trasplantes de sangre de cordón umbilical con acondicionamientos de intensidad reducida (Burnstein et al. 2006).

d.) Hiperamonemia idiopática

Esta infrecuente y grave entidad, ha sido descrita después de la administración de altas dosis de quimioterapia incluyendo el acondicionamiento del alo-TPH (Frere et al. 2000). La presentación clínica consiste en una letargia e hiporreactividad progresivas con descoordinación motora, náuseas e hiperventilación. Analíticamente se observa una alcalosis respiratoria acompañada de una gran elevación de las cifras de amonemia ($>200\mu\text{mol/L}$) aunque con una bilirrubinemia y unas transaminasas dentro o cerca de los límites de la normalidad. La fisiopatología es bastante desconocida aunque parece que podría implicar el desenmascaramiento de un defecto genético oculto hasta el momento, y no existe un tratamiento específico.

e.) Síndrome de Gilbert

Este déficit congénito de actividad del gen de la uridindifosfoglucuronato glucoroniltransferasa, relativamente frecuente en la población (un 9% de habitantes del mundo occidental la presentan), produce una disminución de la conjugación de la bilirrubina que se traduce en una hiperbilirrubinemia total e indirecta leve-moderada (Bosma et al. 1995). No tiene implicaciones clínicas aunque es importante considerarla ya que puede introducir confusión en otros diagnósticos que sí las tienen. La confirmación diagnóstica se hace mediante la determinación de la mutación por técnicas de PCR aunque no siempre se considera necesaria su realización en la práctica clínica habitual.

f.) Alteraciones analíticas de bilirrubina y transaminasas de origen no hepático

Hay algunas situaciones que pueden producir elevación de las pruebas analíticas hepáticas y que sin embargo no tienen ninguna relación con patología a este nivel. Es el caso, de las elevaciones de bilirrubinemia (normalmente indirecta) en la hemólisis o de transaminasas en la rabdomiolisis masiva.

3.4 Justificación de la unidad temática del proyecto

La presente tesis doctoral recoge los resultados de tres estudios publicados en revistas internacionales, directamente relacionados con la función hepática en el contexto del trasplante alogénico de toxicidad reducida. Cada uno incide en un aspecto concreto de la alteración hepática como su relación con otras comorbilidades, el impacto de la alteración pre- y post-trasplante en los resultados del mismo, así como el diagnóstico de las alteraciones hepáticas. El contexto elegido, los alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida, no es en absoluto banal. En estos pacientes, de mayor edad y con enfermedades previas, el estudio de las comorbilidades y toxicidades orgánicas tiene una relevancia especial.

En el primer trabajo, se analiza el papel de varios modelos predictivos de mortalidad, que incluyen las alteraciones hepáticas previas al trasplante en una población de casi 200 alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida de un solo centro. La alteración de la función hepática resultó una de las comorbilidades más frecuentes en estos pacientes y también la que se relacionó en mayor medida con un impacto pronóstico. El trabajo, permite, además, contextualizar y relacionar la alteración de la función hepática con el resto de comorbilidades presentes en el paciente candidato a alo-TPH.

El segundo trabajo, evalúa la importancia de la alteración hepática previa al trasplante de una manera mucho más detallada que en el anterior trabajo. Se analizan los marcadores de alteración hepática y su impacto en el desarrollo de complicaciones durante el procedimiento.

El tercer trabajo, describe las alteraciones hepáticas que ocurren en los receptores de un trasplante de toxicidad reducida y analiza su impacto en los resultados del

procedimiento. Estos dos últimos trabajos, son fruto de una colaboración multicéntrica entre tres grandes centros de trasplante nacionales y recogen más de 450 pacientes.

Cada uno de estos trabajos aporta información completa y autónoma sobre un aspecto concreto de las alteraciones hepáticas en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, pero su unión en esta tesis permite una visión holística del problema, por lo que su valor final, supera, claramente, la suma de las partes.

4. OBJETIVOS

Objetivo principal y global

a. Determinar el papel de las alteraciones de la función hepática en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos con acondicionamiento de toxicidad reducida.

Objetivos secundarios y específicos

- a. Analizar la relación de la alteración hepática con otras comorbilidades y su papel en el índice de comorbilidad del trasplante y otros modelos predictivos en el contexto del alo-TPH.
- b. Describir las características de las alteraciones hepáticas en los candidatos a recibir un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.
- c. Determinar el impacto de las alteraciones de los distintos parámetros analíticos hepáticos en los resultados del alo-TPH.
- d. Caracterizar las alteraciones hepáticas que se producen en la evolución de los alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.
- e. Determinar el impacto del desarrollo de hiperbilirrubinemia en los pacientes que reciben un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.

5. RESULTADOS

Los resultados de la presente tesis doctoral se han presentado y publicado en 3 artículos originales y un trabajo anexo que se encuentra pendiente de publicación:

1. Artículo 1: 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;16:413-20

2. Artículo 2: Barba P, Piñana JL, Fernández-Avilés F, et al. *Pretransplantation liver function impacts on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a study of 455 patients.* Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17:1653-61

3. Artículo 3: Barba P, Martino R, Perez-Simón JA, et al. *Incidence, characteristics and risk factors of marked hyperbilirubinemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning.* Bone Marrow Transplant. 2012;47:1343-9

Trabajo 1

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.

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

Biol Blood Marrow Transplant. 2010;16:413-20

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

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

Patient comorbidities are being increasingly analyzed as predictors for outcome after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), especially in allogeneic HSCT (Allo-HSCT). Researchers from Seattle have recently developed several pretransplant scoring systems (hematopoietic cell transplantation comorbidity index [HCT-CI] and the Pretransplantation Assessment of Mortality (PAM) model) from large sets of HSCT recipients with the aim of improving nontransplant models, mainly the Charlson Comorbidity Index (CCI). The validation of these comorbidity indexes in other institutions and in different disease and conditioning-related settings is of interest to determine whether these models are potentially applicable in clinical practice and in research settings. We performed a retrospective study in our institution including 194 consecutive reduced-intensity conditioning (RIC) AlloHSCT (allo-RIC) recipients to compare the predictive value of the PAM score, CCI, the original HCT-CI, and the flexible HCT-CI using a different risk group stratification. The median patient pretransplant scores for the HCT-CI, PAM, and CCI were 3.5, 22, and 0, respectively. The flexible HCT-CI risk-scoring system (restratified as: low risk [LR] 0-3 points, intermediate risk [IR] 4-5 points, and high risk [HR] > 5 points) was the best predictor for nonrelapse mortality (NRM). The 100-day and 2-year NRM incidence in these risk categories was 4% (95% confidence interval C.I. 2%-11%), 16% (95% C.I. 9%-31%), and 29% (95% C.I. 19%-45%), respectively ($P < .001$), and 19% (95% C.I. 12%-28%), 33% (95% C.I. 22%-49%), and 40% (95% C.I. 28%-56%), respectively ($P = .01$). However, we found no predictive value for NRM using neither the original HCT-CI nor the PAM or CCI models. The better predictive capacity for NRM of the flexible HCT-CI than PAM and CCI was confirmed with the *c*-statistics (*c*-statistics of 0.672, 0.634, and 0.595, respectively). Regarding the 2-year overall survival (OS), the flexible HCT-CI score categories were also associated with the highest predictive HR. In conclusion, our single-center study suggests that the flexible HCT-CI is a good predictor of 2-year NRM and survival after an allo-RIC.

Biol Blood Marrow Transplant 16: 413-420 (2010) © 2010 American Society for Blood and Marrow Transplantation

KEY WORDS: Comorbidity index, Reduced-intensity conditioning stem cell transplantation, Allo-RIC, HCT-CI, Mortality

INTRODUCTION

Knowledge of the impact of specific pretransplant variables on the risk of mortality, especially nonrelapse mortality (NRM), after an allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (Allo-HSCT) is of utmost importance in estimating which patients may benefit most from these high-risk procedures. Disease, transplant procedure, and patient-specific variables have all been analyzed for their impact on survival after an Allo-HSCT [1]. However, it has been historically very difficult to generate a reproducible and easy patient comorbidity model for predicting mortality after these procedures. Recently, the impact of specific underlying comorbidities on survival and NRM has

From the ¹Hematology and Stem Cell Transplantation Division Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain; and ²Avedis Donabedian Foundation, Barcelona, Spain.

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 419.

Correspondence and reprint requests: Rodrigo Martino, MD, PhD, Division of Clinical Hematology, H. de la Santa Creu i Sant Pau, St Antoni M^o Claret 167, Barcelona 08021, Spain (e-mail: rmartino@santpau.cat).

Received July 2, 2009; accepted November 9, 2009

© 2010 American Society for Blood and Marrow Transplantation
1083-8791/10/163-0014\$36.00/0
doi:10.1016/j.bbmt.2009.11.008

been studied in greater detail. The Charlson comorbidity index (CCI) [2] was developed to predict survival after various therapies in cancer patients and those with other serious chronic conditions, but it was not developed for HSCT recipients. Thus, great efforts are being placed in developing more specific HSCT models. In recent years, researchers from Seattle [3,4] developed 2 HSCT-specific indexes that quantify the impact of patients' comorbidities on posttransplant outcome. In 2005, Sorror et al. [3] developed and validated the most popular of these models, which is known as the hematopoietic cell transplantation comorbidity index (HCT-CI), a modification of the CCI, which includes 17 pretransplant comorbidities assigned a weighted semiquantitative impact on outcomes based on the predictive hazard ratio (HR) for NRM. More recently, Parimon et al. [4] developed the Pretransplantation Assessment of Mortality (PAM) score, which included pretransplant variables such as patient age, donor type, and the conditioning regimen in addition to patients' comorbidities. Since its creation, various studies have attempted to validate the HCT-CI in different disease-specific settings (such as acute myelogenous leukemia [AML] [5,6] and lymphoproliferative disorders [7,8]), stem cell sources (umbilical cord blood [UCB] HSCT [9]), and in autologous HSCT [10,11]. The ability of this index to predict survival and NRM has differed between studies, and, in some studies, its predictive potential has not been confirmed [9,12].

Patients who receive reduced-intensity conditioning (RIC) for Allo-HSCT (allo-RIC) are prone to have more significant comorbidities than recipients of a conventional high-dose conditioning regimen, as confirmed in recent studies [12,13]. In the RIC setting, the impact of the comorbidity models on survival and NRM has not been extensively analyzed, and their validation in independent cohorts of allo-RIC recipients is needed. In this retrospective study, we investigated the value of 3 risk-scoring systems (CCI, HCT-CI using a flexible stratification, and the PAM score) in predicting transplant outcomes in a cohort of allo-RIC patients.

PATIENTS AND METHODS

The study included 194 consecutive adult patients who received an allo-RIC in our institution between January 1999 and December 2006. The transplant protocols were approved by our national and local ethics committees, and patients gave written informed consent for their inclusion in each protocol.

Conditioning Regimen and Graft-versus-Host Disease and Infectious Prophylaxis

Conditioning for all patients included fludarabine (Flu) 150 mg/m² in combination with melphalan (Mel)

70-140 mg/m² (lymphoid malignancies and multiple myeloma [MM]), busulfan (Bu) 8-10 mg/kg (myeloid malignancies), cyclophosphamide (Cy) 120 mg/kg (solid malignancies), or low-dose total body irradiation (TBI) 2 Gy (chronic myelogenous leukemia [CML]). Graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis included cyclosporine A (CsA) plus methotrexate (MTX) or CsA plus mycophenolate mophetil (MMF). CsA was started on day -7 at a dose adjusted to blood levels (between 200 and 300 µg/mL). MTX was administered on days +1, +3, and +6 (10 mg/m², followed by folinic acid rescue). MMF was started on day 0 (at least 10 hours after infusion of progenitors) at a dose of 15 mg/kg every 8 hours and continued until day +30. Alemtuzumab or antithymocyte globulin (ATG) were given to recipients of HLA-mismatched related donors (n = 2) or mismatched unrelated donors (n = 13). In addition, patients with Hodgkin disease (HD) with matched unrelated donors (MUD) (n = 7) received ATG as part of a clinical trial, and 2 patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) and 1 with follicular lymphoma with MUD received alemtuzumab also as part of a clinical trial.

Acyclovir, fluconazole, and ciprofloxacin were administered during the first 2 weeks posttransplant as infectious prophylaxis. Cytomegalovirus (CMV) infection screening for guiding preemptive therapy was performed using pp65 antigenemia (until February 2002) or quantitative polymerase chain reaction (PCR) (since February 2002), as reported elsewhere in detail [14].

Disease Risk Status Assessment

Disease status was categorized as low, intermediate, or high risk as previously described [4]. Low-risk disease status included CML in first chronic phase, aplastic anemia (AA), acute leukemia in first complete remission (CR1), and untreated low-risk myelodysplastic syndrome (MDS). Intermediate-risk status included CML in accelerated phase, acute leukemia in second CR, Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma (HL, NHL) in CR1 or CR2, and CLL. High-risk status included acute leukemia and lymphoma not included in the intermediate risk category, multiple myeloma (MM), and solid tumors.

Comorbidity Information

The patients' charts were reviewed to capture in detail all the information needed for calculating the comorbidity indexes, and the final comorbidity score for each index was calculated by adding the different conditions' scores, as defined in each model [2-4], except for the *leukemia* and *lymphoma* categories in the CCI, which were not considered because all of our patients had hematologic malignancies and CCI definitions lack details on which specific malignancies were originally included in this category. According

to the number of patients with each score, we grouped our patients into 3 risk categories (low, intermediate, and high risk). With the aim of including a sufficient number of patients in each risk group we decided to use a flexible HCT-CI, in which patients were classified into low (score 0-3), intermediate (4-5), and high risk (≥ 6), which include 50%, 25%, and 25% of the patients, respectively. These cutoff points differ from the original HCT-CI (stratified as low risk, score 0; intermediate risk, score 1 and 2; and high risk, score ≥ 3) which was also included for comparative purposes. For the PAM score, patients were classified into low (score 9-16), intermediate (17-23), high (24-30), or very high (>30) risk categories [4], with a score of 1 for all patients in the category *Conditioning intensity*. For the CCI [2], patients were grouped into low- (score 0), intermediate- (1-2), and high- (≥ 3) risk categories.

Laboratory test results used for calculating these indexes were performed within 7 days before the beginning of the conditioning regimen, and pulmonary function tests and left ventricular ejection fraction were measured in the month before the transplant.

Endpoints and Statistical analysis

The primary endpoint of the study was to analyze the predictive value of the 3 pretransplant predictive models on NRM and survival in our allo-RIC population. A secondary objective was to describe the most frequent comorbidities in patients undergoing allo-RIC.

Overall survival (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. The incidence of acute GVHD (aGVHD), chronic GVHD (cGVHD), NRM, and relapse were calculated using cumulative incidence estimates, taking into account the competing risk model [15,16]. The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan-Meier curves [17] and compared using the Tarone-ware and the Log rank tests, 2 methods widely used to compare survival distributions [18]. Comparison between baseline characteristics between different groups of patients was performed using 2×2 tables made by means of chi-squared or Fisher's exact *t*-tests. Continuous variables were compared by means of the Wilcoxon rank sum test. Likelihood ratio statistics from proportional hazard models were computed for the study events over the first 2 years post-Allo-HSCT. The *c*-statistic was calculated to estimate the predictive capacity of each index for the analyzed transplant outcomes, as previously described [19]. The *c*-statistic ranges from 0.5 (random correlation) to 1 (perfect correlation), and a model with 0.65 is useful in predicting response of individual patients [3]. In addition, univariate Cox

regression model was used to estimate the impact of the different pretransplant predictive models on NRM and OS, and a significance level of $P \leq .05$ was required.

Of note, because the major objective of this study was to analyze the potential utility of the flexible HCT-CI in predicting posttransplant outcomes, any potential associations between this index and other potentially relevant pretransplantation/transplantation characteristics would lead to unreliable statistical findings. Thus, potential associations of the flexible HCT-CI risk groups with patient age, donor type, performance status, conditioning regimen, GVHD prophylaxis, disease status, CMV serostatus, hematopoietic recovery, incidence of aGVHD and cGVHD, and disease relapse were excluded using the generalized estimating equation method and logistic regression (details not shown).

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).

RESULTS

Patient Characteristics

All 194 consecutive patients who received an allo-RIC in our institution were included in the study, and the pretransplant characteristics are shown in Table 1. Ninety percent of the patients received an allo-RIC from an HLA identical sibling donor, mainly for myeloid malignancies and NHL. Thirty-nine percent of the patients had received a prior autologous SCT. The median age at transplantation was 54 years, and only 13 patients (7%) had low ECOG performance status (>1). The median posttransplantation follow-up for survivors was 48 months.

Distribution of Comorbidity Indexes and Comorbidity Conditions

The frequency of each comorbidity in our patient cohort as defined in the 3 models validated herein is shown in Figure 1. Median scores for the HCT-CI, PAM, and CCI in our population were 3.5 (range: 0-13), 22 (range: 7-37), and 0 (range: 0-6), respectively. The distribution of patients according to each index is summarized in Table 2, which differentiates the patient distribution according to the original HCT-CI risk group stratification from the flexible stratification used in the current study because of the very small numbers of patients in 2 of the 3 risk groups when categorized by the original HCT-CI [3] (low risk = 13 patients, intermediate risk = 24 patients, high risk = 157 patients).

Table 1. Patient Characteristics and Transplant Outcomes

Median age, years (range)	54 (18-71)
Sex male, n (%)	122 (63)
• Female donor to male recipient	52 (27)
Underlying disease, n (%)	
• AML or MDS-MPS	63 (32)
• Hodgkin lymphoma	27 (14)
• NHL and CLL	55 (28)
• Multiple Myeloma	29 (15)
• Others	20 (10)
Advanced disease status at HSCT*, n (%)	118 (60)
Recipient/Donor CMV serology, n (%)	
• Recipient and donor negative	16 (8)
• Recipient and/or donor positive	178 (92)
Donor type, n (%)	
• HLA identical sibling	153 (79)
• Alternative (VUD or MM related)	41 (21)
Conditioning regimen, n (%)	
• Fludarabine-Melphalan	121 (62)
• Fludarabine-Busulfan	62 (32)
Peripheral blood stem cells, n (%)	181 (93)
Alemtuzumab or ATG based conditioning, n (%)	25 (13)
GVHD prophylaxis, n (%)	
• CsA-MTX	135 (70)
• CsA-MMF	53 (27)
Graft content, CD34+ × 10 ⁸ /kg, median (range)	6.3 (1.3-15.6)
Transplant outcomes	
Cum. Inc. acute GVHD, % (95% C.I.)	
• Grade I-IV	55 (48-63)
• Grade II-IV	29 (23-36)
Cum. Inc. chronic GVHD at 2 years, % (95% C.I.)	70 (63-78)
Cum. Inc. relapse at 2 years, % (95% C.I.)	35 (28-42)
Cum. Inc. NRM at 2 years, % (95% C.I.)	27 (22-34)
Probability of 2-year overall survival, % (95% C.I.)	52 (45-59)
Median follow-up for survivors, days (range)	1396 (46-2947)

AML indicates acute myelogenous leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; MPS, myeloproliferative syndrome; NHL, Non-Hodgkin lymphoma; CLL, chronic lymphocytic leukemia; n, number; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; CsA, cyclosporine A; MTX, methotrexate; MMF, micophenolate mophetil; GVHD, graft-versus-host disease; CI, confidence interval; Cum. Inc., cumulative incidence; CMV, cytomegalovirus; VUD, volunteer unrelated donor; MM, HLA mismatch; ATG, antithymocyte globulin.

*Advanced (or nonearly) disease status was considered in patients with acute leukemia in ≥2nd complete remission (CR), myeloproliferative disease in ≥2nd chronic phase and in accelerated 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 tumors. Patients with PR or persistent disease at transplantation (except for myeloma) were also considered as advanced disease status.

The prevalence of different comorbidities according to the specific definition used for each comorbidity in each classification system is shown in Figure 1. Regardless of the specific definition used, the most frequent comorbidity was pulmonary impairment (85% according to HCT-CI, 82% according to PAM score—35% with low forced expiratory volume in 1 second (FEV₁) and normal carbon monoxide diffusing capacity [DLCO], 20% with normal FEV₁ and low DLCO, and 26% with low FEV₁ and low DLCO—and 20% according to CCI). From the 164 patients with pulmonary disease according to the HCT-CI, 80 patients (49%) had severe pulmonary impairment, whereas 84 patients (51%) had moderate lung disease.

Outcome

GVHD

aGVHD developed in 101 (54%) patients, with a day +120 cumulative incidence of grade II-IV aGVHD of 29% (95% C.I. 23%-36%). Of the 142 patients evaluable for cGVHD, 100 developed cGVHD, with a 4-year cumulative incidence of 52% (95% C.I. 45%-59%).

NRM

The 100-day and 2-year incidences of NRM were 12% (95% C.I. 9%-19%) and 27% (95% C.I. 22%-34%), respectively. 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). In univariate analysis, the flexible HCT-CI risk groups showed an impact on the early and late NRM, as shown in Table 2 and Figure 2. Although both the original HCT-CI risk group stratification and the flexible stratification appeared somewhat discriminative (especially in early NRM), we chose to use the flexible version because of the greater number of patients included in the low and intermediate risk groups, as shown in Table 2. With this stratification, the flexible HCT-CI low-, intermediate-, and high-risk groups had a day +100 NRM of 4%, 16%, and 29% ($P < .01$), respectively, and a 2-year NRM of 19%, 33%, and 40%, respectively ($P = .01$). However, we found no impact on early or late NRM when using the PAM and CCI risk group models, either with the original stratification (Table 2) or with alternative stratifications (data not shown). In addition, the *c-statistic* for the flexible HCT-CI, PAM, and CCI for 2-year NRM was 0.672, 0.634, and 0.595, respectively, showing that the former had the greatest predictive value for detecting increases in NRM.

OS

The 2-year probability of OS was 51%. In univariate analysis, only the flexible HCT-CI risk groups showed an impact on OS (shown in Table 2 and Figure 3), which was 63%, 47%, and 31% in the low-, intermediate-, and high-risk groups, respectively ($P < .001$). Again, the original HCT-CI, PAM, and CCI risk group models showed no impact on OS, although the PAM showed a trend ($P = .11$). Again, the *c-statistic* values for the flexible HCT-CI, PAM, and CCI with respect to 2-year OS were 0.731, 0.680, and 0.672, respectively, being the highest with the HCT-CI.

DISCUSSION

The introduction of RIC transplants has been repeatedly stated to be a major factor for the increasing number of Allo-HSCT performed in elderly and

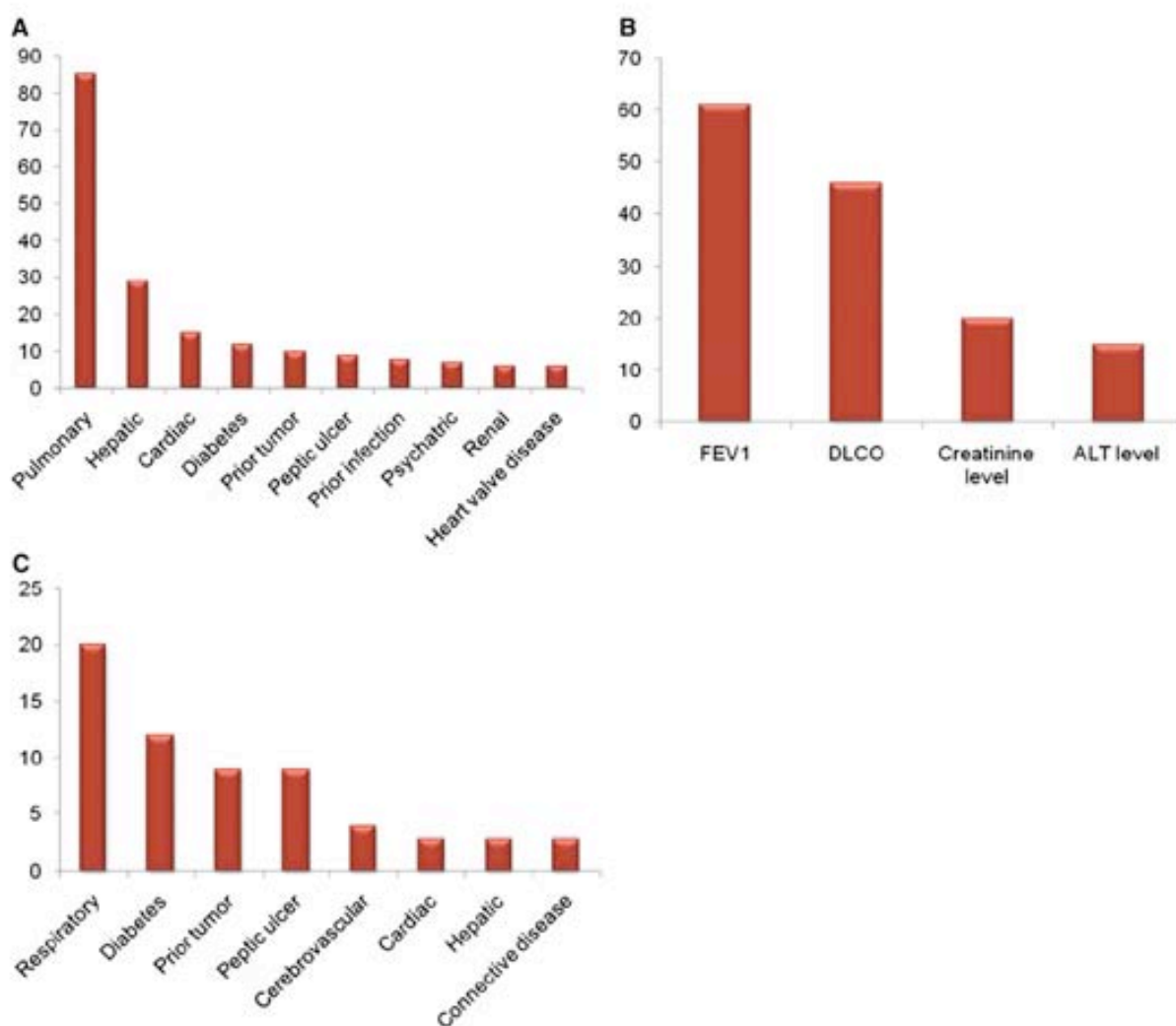


Figure 1. Distribution of comorbidities according to HCT-CI (A), PAM score (B), and CCI (C).

infirm patients who would not have been eligible for myeloablative (MA) conditioning because of an expected high conditioning-related toxicity and very high early NRM. Furthermore, these comorbidities may also lead to high late NRM, because they are not expected to improve along the posttransplant period. Thus, it becomes imperative to analyze whether the indexes developed for other patient groups and transplant types are also applicable to an independent cohort of allo-RIC recipients, with much higher baseline comorbidities. If so, in the future such indexes might be included in patient decision-making algorithms, both for conventional high-dose and also allo-RIC procedures. However, some authors have already shown that the HCT-CI, the most widely studied index, may not be useful for very different Allo-HSCT settings, such as adult cord blood transplantation (CBT) [8] or in a heterogeneous cohort of Allo-HSCT procedures [13]. Thus, a possible weak-

ness of all current models may depend on not having the same impact in different patient and transplant populations.

Our patient characteristics confirm the high rate of comorbidities in an allo-RIC population. As in previous studies [3,7,9], the most common comorbidity was moderate or severe pulmonary impairment, whereas cardiac and hepatic abnormalities and diabetes were also common, as shown in Figure 1. Of note, the frequency of the various comorbidities largely depends on the exact definition established in each comorbidity index, which differ significantly for most major organs. For instance, 21 patients (11%) in our series had moderate or severe hepatic abnormalities according to the HCT-CI definitions, whereas none met the much stricter criteria used in the CCI. The limited capacity of the CCI to capture the less severe abnormalities commonly seen in Allo-HSCT recipients has been previously pointed out [3,13], and

Table 2. Comorbidity Groups as Stratified by Scores of the HCT-CI (Original and Flexible Stratifications), the PAM and the CCI and the Observed Nonrelapse Mortality and Overall Survival by Risk Groups

	Num. Patients (%)	Day +100 NRM		2-year NRM		2-year OS	
		Incidence (95% C.I.)	Univariate P	Incidence (95% C.I.)	Univariate P	Probability (95% C.I.)	Univariate P
Original HCT-CI risk groups							
• Low (score 0)	13 (7)	0 (0-0)		15 (4-55)		54 (40-67)	.55
• Intermediate (score 1-2)	34 (18)	6 (2-24)	<.001	18 (9-36)	.43	59 (50-68)	
• High (score >2)	147 (76)	16 (11-24)	.36	31 (24-39)	.52	49 (45-53)	
Flexible HCT-CI risk groups							
• Low (score 0-3)	97 (50)	4 (2-11)	—	19 (12-28)	—	63 (58-68)	
• Intermediate (score 4-5)	49 (25)	16 (9-31)	.008	33 (22-49)	.04	47 (40-54)	<.001
• High (score >5)	48 (25)	29 (19-45)	.001	40 (28-56)	.01	31 (24-38)	<.01
Pretransplantation Assessment of Mortality (PAM)							
• Low (8-15)	13 (7)	8 (1-51)	—	23 (9-62)	—	77 (65-89)	.11
• Intermediate (16-22)	87 (45)	10 (6-19)	.7	22 (15-32)	.40	56 (51-61)	
• High (23-29)	81 (42)	19 (12-29)	.16	33 (24-45)	.44	43 (37-49)	
• Very high (>30 = 30)	13 (7)	8 (1-51)	.7	31 (14-70)	.90	38 (24-52)	
Charlson Comorbidity Index (CCI)							
• 0	100 (52)	11 (6-19)	—	26 (19-36)	—	56 (51-61)	.35
• 1-2	77 (40)	16 (10-27)	.35	27 (18-49)	.57	47 (41-53)	
• > 2	17 (9)	20 (7-54)	.69	35 (25-99)	.49	41 (29-53)	

HCT-CI indicates Hematopoietic Cell Comorbidity Index; C.I., confidence interval; NRM, nonrelapse mortality; OS, overall survival.

we confirm that this is the case even in the allo-RIC setting, because we found a median CCI score of 0 (that is, no comorbidities by the CCI), with <10% of the patients being in a high-risk category, defined by a score of only >2 points. However, the high proportion of patients in the CCI low risk category (score 0) includes both completely fit patients and those with "mild" comorbidities (not captured with the CCI), which may have prognostic impact when redefined by the HCT-CI criteria.

The PAM score includes some true comorbidity conditions (such as renal failure and respiratory impairment), but also several noncomorbidity variables, such as age, donor type, and conditioning regimen. We failed to find any correlation between the PAM score

and NRM or survival. Other studies including MA and RIC patients [13,20], which have analyzed the predictive capacity of the PAM score, have obtained apparently disparate results. One study failed to confirm the utility of this model [13], as in our own, but because they did not use pulmonary function test data their conclusions regarding the predictive capacity of PAM score may be controversial. A second study [20] found an association between the PAM score and the NRM in recipients of a conventional MA Allo-HSCT, but not in the subset of allo-RIC recipients, suggesting the lack of utility of the PAM index in patient cohorts with high comorbidities.

The modification that we introduced of the 3 risk group categories defined by the original HCT-CI may be considered controversial. However, because our patient group had very few patients with

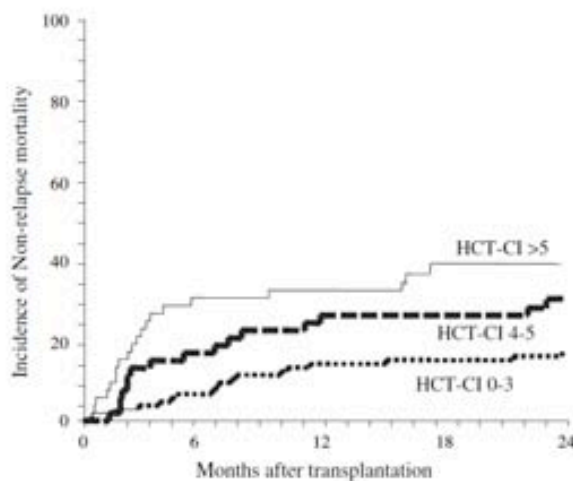


Figure 2. Cumulative incidence of NRM according to the flexible HCT-CI risk groups.

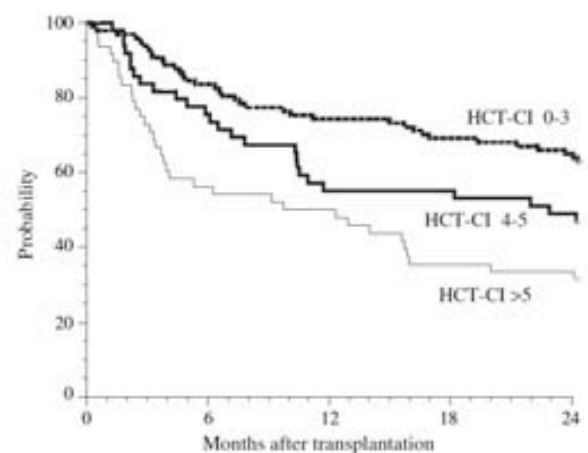


Figure 3. OS according to the flexible HCT-CI risk groups.

0 comorbidities and even with a score of 1-2 (low- and intermediate-risk groups by the original HCT-CI criteria), we modified the threshold levels for the transition from low- to intermediate-risk and intermediate- to high-risk categories, and the most useful recoding was a score of 0-3 for the low-risk group, a score of 4-5 for the intermediate-risk group, and a score of >5 for the high-risk group. This flexible HCT-CI appeared a better predictive tool than the original HCT-CI for both NRM and OS (Table 2). This highlights how the HCT-CI and other scoring systems should have the flexibility to allow stratification of risk groups based on the balanced distribution of the characteristics of the patient cohorts studied.

We also explored the value of the original and flexible HCT-CI in predicting other transplant outcomes, but there was no impact of this index in univariate analysis on the incidence of aGVHD, suggesting that it is indeed a better predictor of NRM and OS than other transplant outcomes.

The group of experts who developed the HCT-CI recently recommended the validation of the currently available comorbidity models by comparing these indexes in relatively homogeneous patient populations with adequate numbers of tested events [21]. Because we focused the validation in an allo-RIC setting and had no missing data to calculate all the comorbidity categories, the results described herein support the value of objectively calculated comorbidity scores for future decision making in an allo-RIC setting, although the exact thresholds for classifying the risk groups may differ in various settings. Further complexity comes from the fact that the truly independent impact of each type of comorbidity must be determined by integrating them in a more comprehensive and complex pretransplant assessment. Undoubtedly, individual comorbidities do not simply have an additive effect in determining outcome, but rather interact with other patient, disease, transplant-related, social, and psychological characteristics. Of course, the current study cannot address these issues.

Thus, a flexible HCT-CI proved to be a strong independent predictor of NRM and OS in the studied allo-RIC cohort, and continued international efforts to develop robust comorbidity scores appear warranted. Patients, clinicians, and researchers will undoubtedly welcome new tools to improve the selection of the best candidates for a high-risk procedure such as an Allo-HSCT, even in the setting of RIC.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial disclosure: J.L. Piñana is supported by a 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).

Conflict of interest: The authors declare no conflicting interests.

REFERENCES

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Sorror ML, Giral 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.
6. Sorror ML, Sandmaier BM, Storer BE, et al. Comorbidity and disease status based risk stratification of outcomes among patients with acute myeloid leukemia or myelodysplasia receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2007;25:4246-4254.
7. 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.
8. Pollack SM, Steinberg SM, Odom J, Dean RM, Fowler DH, Bishop MR. Assessment of the hematopoietic cell transplantation comorbidity index in non-Hodgkin lymphoma patients receiving reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:223-230.
9. 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;14:985-992.
10. Wildes TM, Augustin KM, Sempke 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.
11. 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.
12. 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.
13. Xhaard A, Porcher R, Chien JW, et al. Impact of comorbidity indexes on non-relapse mortality. *Leukemia*. 2008;22:2062-2069.
14. Piñana JL, Martino R, Barba P, et al. Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: single-center experience. *Bone Marrow Transplant*. 2009 [Epub ahead of print].
15. 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.
16. 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.
 17. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53:457-481.
 18. Tarone R, Ware J. On distribution-free test for equality of survival distributions. *Biometrika*. 1977;64:156-160.
 19. Harrell FE Jr, Lee KL, Califf RM, Pryor DB, Rosati RA. Regression modelling strategies for improved prognostic prediction. *Stat Med*. 1984;3:143-152.
 20. Chien JW, Sullivan KM. Carbon monoxide diffusion capacity: how low can you go for hematopoietic cell transplantation eligibility? *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:447-453.
 21. Sorror ML, Storer B, Storb RF. Validation of the hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index (HCT-CI) in single and multiple institutions: limitations and inferences. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:757-758.

Trabajo 2

Pretransplantation liver function impacts on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a study of 455 patients.

Barba P, Piñana JL, Fernández-Avilés F, Perez-Simón JA, Martino R, López-Guerrero E, Valcárcel D, Rovira M, Novelli S, Campos-Varela I, López-Anglada L, Vidal X, López Corral L, Carreras E, Sierra J.

Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17:1653-61

Pretransplantation Liver Function Impacts on the Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Study of 455 Patients

Pere Barba,^{1,7} José Luis Piñana,^{1,8} Francesc Fernández-Avilés,² Jose Antonio Perez-Simón,³ Rodrigo Martino,¹ Eva López-Guerrero,⁴ David Valcárcel,^{1,7} Montserrat Rovira,² Silvana Novelli,¹ Isabel Campos-Varela,⁵ Lucía López-Anglada,³ Xavier Vidal,⁶ Lucía López Corral,³ Enric Carreras,² Jorge Sierra¹

Liver dysfunction is frequent before allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). However, its characteristics and impact on transplantation outcomes are uncertain, especially in the reduced-intensity conditioning (RIC) setting. We analyzed 455 patients receiving an allo-SCT in 3 Spanish centers. Pretransplantation aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransaminase (ALT), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), alkaline phosphatase (AP), total bilirubin, and international normalized ratio were analyzed. Pretransplantation liver function test abnormalities were found in 94 (22%) patients. The most frequent cause of pretransplantation liver dysfunction was isolated elevation of GGT/AP ($n = 49$, 53%). Patients with high bilirubin levels before allo-SCT showed higher 4-year nonrelapse mortality (4y-NRM) (hazard ratio [HR] 2 [95% confidence interval [CI] 1.1-3.8] $P = .02$) and patients with high GGT levels showed higher 100-day NRM and lower 4-year overall survival (OS) (HR 3.4 [95% CI 1.8-6.7] $P < .001$, and HR 2 [95% CI 1.4-3], $P = .001$), respectively. High levels of transaminases did not influence on survival or mortality. In conclusion, hepatic dysfunction before allo-SCT is frequent and has an impact on transplantation outcomes. The best indicator of liver dysfunction still has to be determined.

Biol Blood Marrow Transplant 17: 1653-1661 (2011) © 2011 American Society for Blood and Marrow Transplantation

KEY WORDS: Liver function, Hepatic, Reduced-intensity conditioning, Stem cell transplantation, RIC, HCT-CI, GGT

From the ¹Hematology Departments of Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Autonomous University of Barcelona and Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ²Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain; ³Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain; ⁴USMIB, Vall d'Hebron Research Institute, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain; ⁵Liver Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Centro de Investigación Biomedica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁶Clinical Pharmacology Service, Vall d'Hebron University Hospital, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain; ⁷Hematology Department of Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, Barcelona, Spain; and ⁸Clinical Hematology División, Hospital Manises, Manises, Spain.

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 1660.

Correspondence and reprint requests: Pere Barba, MD, Hematology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Mas Casanovas, 90, Barcelona 08025, Spain (e-mail: pebarba@vhebron.net).

Received February 16, 2011; accepted April 17, 2011

© 2011 American Society for Blood and Marrow Transplantation 1083-8791/\$36.00

doi:10.1016/j.bbmt.2011.04.009

INTRODUCTION

Pretransplantation comorbidities are known to have a major impact on the outcome of allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). In order to estimate the potential risk of the procedure before transplantation, several pretransplantation predictive models based on comorbidities have been developed and validated [1-3] in several disease and transplantation settings. Recipients of reduced-intensity conditioning allo-SCT (allo-RIC) are prone to have more significant comorbidities [4,5] because these patients are usually older and have received several prior treatments. Thus, the study of comorbidities in this group of patients is of utmost importance.

Hepatic dysfunction before transplantation has been identified as one of the most frequent comorbidities in allo-SCT recipients [2,6,7] and included in several comorbidity indexes. For instance, the Hematopoietic Cell Transplantation comorbidity index (HCT-CI) includes 2 items regarding hepatic dysfunction: mild/moderate hepatic disease and severe hepatic disease. Furthermore, the category of severe

hepatic dysfunction was associated with the highest hazard ratio for 2-year nonrelapse mortality (NRM) among all the comorbid conditions included in the development set of the HCT-CI [2].

Clinical data together with radiologic and laboratory tests are used in current practice to evaluate hepatic dysfunction before transplantation. The most frequent laboratory parameters used include aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), bilirubin, alkaline phosphatase (AP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), international normalized ratio (INR), and the albumin levels. Among these, AST, ALT and bilirubin are the most commonly considered in clinical practice and in pretransplantation predictive models [2,3]. The clinical significance of each liver function test abnormality before transplantation, their impact on transplantation outcomes, and the best way to determine pre-SCT liver dysfunction remain unexplored. With these aims, we conducted a retrospective study in a large cohort of allo-SCT recipients receiving a remarkably homogeneous conditioning.

PATIENTS AND METHODS

The study included consecutive adult patients who received an allo-SCT in 3 large transplant centers in Spain between February 1998 and December 2008: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona (HSCSP), Hospital Clinic of Barcelona (HCB), and Hospital Universitario of Salamanca (USAL). The transplant protocols were approved by national and local ethics committees, and patients gave written informed consent for their inclusion in each protocol.

Conditioning Regimen, HLA Typing, Infectious Prophylaxis, and GVHD Assessment and Prophylaxis

The transplant protocol has been published elsewhere [8-11]. Patients received RIC regimens as described [12,13]. Despite some patients receiving fludarabine in combination with oral busulfan at 10 mg/kg, pharmacokinetic dosage adjustment of busulfan was performed to ensure a similar steady-state concentration (range: 800-1000 ng/mL) [14] irrespective of the final dose administered. Thus, because all patients were exposed to similar concentration of busulfan, we included in the current study such conditioning as a RIC regimen. In brief, conditioning regimen for all patients included fludarabine (150 mg/m²) in combination with melphalan (70-140 mg/m²) (lymphoid malignancies and multiple myeloma), busulfan 8-10 mg/kg (myeloid malignancies), cyclophosphamide 120 mg/kg (solid malignancies), or low-dose total body irradiation (TBI) 2Gy (chronic myeloid leukemia).

Regarding HLA typing, family donors were tested for HLA-A, -B (low resolution), and DRB1 (high resolution). Unrelated donors were tested for HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 (high resolution). Allelic high-resolution HLA typing was performed by means of polymerase chain reaction-sequencing based typing PCR-SBT, whereas low-intermediate resolution typing was performed using the PCR Sequence-Specific Oligonucleotide Primed PCR-SSO method.

Graft-versus-host disease (GVHD) was diagnosed based on histological and clinical findings. Severity of acute GVHD (aGVHD) was graded according to the modified Seattle criteria [15]. Evaluation and diagnosis of chronic GVHD (cGVHD) were performed based on established criteria [16] and, more recently, on the National Institutes of Health (NIH) consensus criteria [17]. GVHD prophylaxis (summarized in Table 1) included cyclosporine A (CsA) plus methotrexate (MTX) or CsA plus mycophenolate mofetil (MMF). CsA was started on day -7 at a dose adjusted to blood levels (between 200 and 300 µg/mL). MTX was administered on days +1, +3, and +6 (10 mg/m², followed by folic acid rescue). MMF was started on day 0 (at least 10 hours after infusion of progenitors) at a dose of 15 mg/kg every 8 hours and continued until day +30. In vivo T cell depletion with alemtuzumab or antithymocyte globulin (ATG) was used in patients receiving a transplant from HLA mismatched donors or in a few patients included in clinical trials.

Acyclovir, fluconazole, and quinolones (ciprofloxacin or norfloxacin) were administered from day -1 and until neutrophilic recovery as infectious prophylaxis. Cytomegalovirus (CMV) infection screening for guiding preemptive therapy was performed as described elsewhere in detail [18]. Galactomannan Platelia® assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) in blood samples was routinely performed since 2003 [19].

Management and Evaluation of Liver Function before SCT

All patients were tested for AST, ALT, total and conjugated bilirubin, GGT, AP, INR, hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B core antibodies (anti-HBc), and antibodies against hepatitis C virus (HCV) and serum ferritin levels. Because albumin levels might be influenced by disease status at transplantation this test was not considered as a useful marker of liver dysfunction. Patients with moderate or severe abnormalities of these tests or patients with clinical suspicion of hepatic disease underwent imaging examinations and biopsy according to physician's criteria. Laboratory tests of liver function were performed within 7 days before the beginning of the conditioning regimen. Imaging studies, if needed, were performed within 30 days before transplantation.

Medical charts were retrospectively reviewed by 1 investigator in each center. Patients with pretransplantation liver abnormalities were also reviewed by a second investigator and by a local hepatologist when needed. Severe abnormal AST, ALT, AP, and GGT were considered for levels before transplantation higher than 2.5 times the upper normal limit (UNL), following the NCI criteria, version 3.0 [20] and the HCT-CI criteria. In the same way, severe abnormal total bilirubin levels and INR prolongation were considered when they were higher than $1.5 \times$ UNL and higher than the UNL, respectively. High ferritin levels were considered when ≥ 1000 ng/mL. Other abnormalities below these thresholds were considered mild. The severe hepatic disease category of the HCT-CI was calculated for all patients as originally defined [2].

Classification of Liver Diseases before SCT

Pretransplantation underlying hepatic diseases were reviewed by a local hepatologist and hematologist. *Compensated cirrhosis* was defined by a previous diagnosis of cirrhosis without episodes of encephalopathy, ascites, or presence of varices. *Drug induced liver injury (DILI)* was defined as abnormal liver function related to previous treatment and without any other plausible cause of liver toxicity. *Nonalcoholic steatohepatitis* was defined in patients with laboratory and imaging findings of steatohepatitis with mild or no alcohol intake. *Isolated elevations of AST/ALT and GGT/AP* were defined as isolated transaminases or cholestatic markers abnormalities not includible in any of other categories. Definition of *viral chronic hepatitis* was based on a known active viral infection and liver test abnormalities in patients without clinical or imaging or pathologic evidence of cirrhosis. *Alcoholic fatty liver or hepatitis* was identified in alcohol consumers (>30 g/day in men, 20 g/day in women) with compatible liver test abnormalities and no other plausible causes of liver dysfunction. *Hepatic iron overload* was suspected in patients with biochemical serum testing with indirect iron markers or radiologic (MRI) findings and confirmed with genotype testing or pathological measurement of iron deposits in the liver if clinically indicated. *Autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis* were defined in patients with laboratory and histologic findings of these entities.

No prophylactic treatment with ursodeoxycholic acid was used in any of the 3 centers during the study period.

End points and Statistical Analysis

The primary endpoint of the study was to determine the impact of pretransplantation liver test abnormalities on 4-year NRM and overall survival (OS). Secondary endpoints were description of liver function test abnormalities before transplant and determination of their impact on GVHD.

OS and NRM were defined as the time from day 0 of the transplantation to death from any cause and death from any cause but relapse, respectively. Patients who died before engraftment and before day +100 were not considered eligible for aGVHD and cGVHD analysis, respectively. The incidence of aGVHD, cGVHD, NRM, and relapse were calculated using cumulative incidence estimates, taking into account the competing risk model [21,22]. The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan-Meier curves [23] and compared using the *l*-rank test. Comparison between baseline characteristics of patients was performed using contingency tables and by means of chi-square or Fishers exact *t* tests. Continuous variables were compared by means of the Wilcoxon rank sum test. Univariate Cox regression model was used to estimate the impact of the different pretransplantation variables on NRM and OS. The multivariate analysis (MVA) was performed taking into account the competing risk structure. Pretransplantation variables with a significance level of $P \leq .1$ in the univariate analysis (UVA) were included in the MVA where a significance level of $P \leq .05$ was required. Because only 5 (1%) of the patients had INR abnormalities before SCT, this item was not included in the statistical analysis of risk factors. Variables included in the MVA are listed in Table 2. Other variables tested in the UVA included stem cell source, patient gender, CMV status, conditioning regimen and underlying disease, renal impairment, and ferritin levels.

All statistical analyses were performed using SPSS version 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were performed with NCSS 2004 (Number Cruncher Statistical System, Kaysville, UT).

RESULTS

Patient Characteristics

All 455 consecutive patients who received an allo-SCT in one of the 3 centers between the study period were included. HSCSP, USAL, and HCB contributed with 230, 145, and 80 patients, respectively. Patients from each center were comparable in terms of age, sex, underlying disease, risk disease status at SCT, CMV serostatus, donor type, and conditioning regimen (details not shown). Regarding the GVHD prophylaxis regimen used, patients in USAL received more CsA-MTX ($n = 125$, 86%) compared with HSCSP ($n = 146$, 64%) and HCB ($n = 48$, 60%), $P = .01$. Consequently, the combination of CsA and MMF was more frequently used in HSCSP ($n = 131$, 29%) and HCB ($n = 25$, 31%) than in USAL ($n = 11$, 8%), $P = .01$. All the patients were grouped because we previously reported that the use of MMF versus MTX led to similar outcomes [24].

Table 1. Patient Characteristics and Transplantation Outcomes

	Patients = 455
Median age, years (range)	53 (16-71)
Gender male, n (%)	276 (61)
Female donor to male recipient	118 (26)
Underlying disease, n (%)	
AL or MDS-MPS	179 (39)
Hodgkin's lymphoma	59 (13)
NHL and CLL	129 (29)
Multiple myeloma	72 (16)
Others	14 (3)
High-risk disease at HSCT,* n (%)	286 (63)
Recipient/donor CMV serology, n (%)	
Recipient and donor negative	51 (11)
Recipient and/or donor positive	404 (89)
Donor type, n (%)	
HLA identical sibling	363 (80)
Alternative† (VUD or MM related)	92 (20)
Conditioning regimen, n (%)	
Fludarabine-Melphalan	276 (60)
Fludarabine-Busulphan	151 (33)
Other	28 (6)
T cell depletion, n (%)	62 (14)
Peripheral blood stem cells, n (%)	434 (95)
GVHD prophylaxis, n (%)	
CsA-MTX	296 (65)
CsA-MMF	131 (29)
Transplantation outcomes	
Cum. Inc. acute GVHD II-IV, % (95% CI)	26 (22-30)
Cum. Inc. chronic GVHD at 4 years, % (95% CI)	51 (46-57)
Cum. Inc. relapse at 4 years, % (95% CI)	32 (28-36)
Cum. Inc. NRM at 4 years, % (95% CI)	30 (26-35)
Probability of 4-year overall survival, % (95% CI)	48 (45-51)
Median follow-up for survivors, months (range)	53 (3-123)

AL indicates acute leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; MPS, myeloproliferative syndrome; NHL, Non-Hodgkin lymphoma; CLL, chronic lymphocytic leukemia; n, number; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; CsA, cyclosporine A; MTX, methotrexate; MMF, mycophenolate of mophetil; GVHD, graft-versus-host disease; CI, confidence interval; Cum. Inc., cumulative incidence; CMV, cytomegalovirus; VUD, volunteer unrelated donor; MM, HLA mismatch; ATG, antithymocyte globulin.

*High-risk disease status was considered in patients with acute leukemia in equal to or greater than second complete remission (CR), myeloproliferative disease in equal to or greater than second chronic phase and in accelerated or blast phase, Hodgkin's disease in equal to or greater than third remission or with partial remission (PR), follicular lymphoma equal to or greater than third CR, or large B cell lymphoma or multiple myeloma equal to greater than second CR or PR and solid tumors. Patients with PR or persistent disease at transplantation (except for myeloma) were also considered as advanced disease.

†Alternative donors include all donors except for HLA identical siblings.

Pretransplantation characteristics are shown in Table 1. A total of 363 (80%) received a transplant from an HLA identical sibling, whereas 92 patients were transplanted from alternative donors (5 [1%] HLA mismatched related donors, 47 [10%] matched unrelated donors, and 40 [9%] mismatched unrelated donors). The median times of follow-up for all patients and for survivors were 22 and 53 months, respectively. No differences were observed between patients with or without at least 1 severe liver test abnormality before SCT regarding age, gender, baseline disease, conditioning regimen, GVHD prophylaxis, use of T cell depletion, type of donor, CMV serostatus, and sex mismatch between donor and recipient (details not shown).

Hepatic Disease and Liver Test Abnormalities before Transplantation

Severe abnormal levels of AST, ALT, total bilirubin, GGT, AP, and INR were found in 10 (2%), 21 (5%), 22 (5%), 31 (7%), 40 (9%), and 5 (1%) patients, respectively. Median levels of AST, ALT, total bilirubin, GGT, AP, and the INR were 22 U/L (range: 7-289), 26 U/L (range: 3-565), 10 mmol/L (range: 2-287), 29 U/L (range: 4-768), 114 U/L (range: 5-1183), and 1.03 (range: 1.8-0.87), respectively.

Overall, 94 patients (21%) had at least 1 severe liver test abnormality before transplantation. Of them, 16 patients (17%) had signs or symptoms of hepatic disease, whereas 78 (83%) were asymptomatic. The most frequent clinical features were jaundice ($n = 9$, 56%), edemas because of hypoproteinemia ($n = 4$, 25%), and bleeding disorders ($n = 3$, 19%). Pretransplantation underlying liver diseases are summarized in Figure 1.

Outcome

GVHD

Among the 448 (98%) patients eligible for aGVHD analysis, 193 (42%) developed aGVHD, for a cumulative incidence of 42% (95% confidence interval [CI] 37-47). A total of 125 (27%) patients had grade II-IV aGVHD for a cumulative incidence of 26% (95% CI 22-30). Seventy-nine patients (17%) presented hepatic aGVHD at diagnosis for a cumulative incidence of hepatic aGVHD of 16% (95% CI 11-20). In MVA, risk factors for the development of grade II-IV aGVHD were high GGT levels before transplantation (HR 2.7 [95% CI 1.6-4.4], $P < .001$) and alternative (non-HLA identical siblings) donors (HR 2.1 [95% CI 1.1-3.9], $P = .03$) (Table 2). We also performed an MVA for the occurrence of hepatic involvement at the time of diagnosis of aGVHD. The only factor associated with hepatic involvement at diagnosis of aGVHD was high GGT levels before transplantation (hazard ratio [HR] 4.9 [95% CI 2.2-11], $P < .001$).

Regarding cGVHD, 391 patients (86%) were eligible for the analysis. A total of 197 (50%) patients developed cGVHD during follow-up for a cumulative incidence of 51% (95% CI 46-57%). In the MVA, patients with high ALT levels before transplantation showed a higher probability of developing cGVHD (HR 2.7 [95% CI 1.5-4.8], $P = .001$). Other variables associated with higher probability of cGVHD in the MVA were age >60 years (HR 2.2 [95% CI 1.3-3.5], $P = .002$), alternative donors (HR 2.2 [95% CI 1.3-3.5], $P = .002$), high-risk disease at SCT (HR 1.6 [95% CI 1.1-2.3], $P = .009$), and female donors to male recipients (HR 1.6 [95% CI 1.2-2.2], $P = .003$) (Table 2).

Table 2. Univariate and Multivariate Analysis of Pretransplant Hepatic Dysfunction and Other Risk Factors on Transplantation Outcomes

	Uni p	100-day NRM	P	Uni p	4-year NRM	P	Uni p	4-year OS	P	Uni p	aGVHD 3-4V	P	Uni p	cGVHD	P
AST elevation															
>2.5 × UNL	0.1	—		0.5	—		0.7	—		0.15	—		0.2	—	
ALT elevation															
>2.5 × UNL	0.1	—		0.6	—		0.1	—		0.5	—		0.001	2.7 (1.5-4.8)	.001
Bil elevation															
>1.5 × UNL	0.001	3.1 (1.4-6.6)	.004	0.03	2 (1.1-3.8)	.03	0.2	—		0.5	—		0.2	—	
GGT elevation															
>2.5 × ULN	<0.001	3.4 (1.8-6.3)	<.001	0.02	—	ns	<0.001	2 (1.4-3)	.001	<0.001	2.7 (1.6-4.4)	<.001	0.6	—	
AP elevation															
> 2.5 × ULN	0.1	—		0.8	—		0.4	—		0.5	—		0.07	—	ns
Donor															
Alternative	0.05	—	ns	0.009	2.1 (1.4-3.1)	.001	0.04	1.6 (1.2-2.3)	.004	0.04	2.1 (1.1-4.9)	.03	<0.001	2.2 (1.3-3.5)	.002
Disease															
High-risk	0.006	1.5 (1.1-2.1)	.01	ns	—		ns	—		ns	—		<0.001	1.6 (1.1-2.3)	.009
Age															
≥60 years	ns	—		0.007	2.1 (1.4-3.1)	<.001	0.03	1.6 (1.2-2.2)	.003	ns	—		<0.001	2.2 (1.3-3.5)	.002
GVHD prof.															
CsA-MMF	ns	—		0.002	nt ^a		0.009	nt ^a		ns	—		0.001	nt ^a	
Female to male															
Yes	ns	—		ns	—		0.03	1.4 (1-1.8)	.04	ns	—		0.003	1.6 (1.2-2.2)	.003
TCD															
Yes	ns	—		ns	—		ns	—		0.04	nt ^a		0.001	nt ^a	

uni p indicates univariate analysis p value; AST, aspartate aminotransferase; UNL, upper normal limit; ALT, alanine aminotransferase; GGT, gamma glutamyl transpeptidase; AP, alkaline phosphatase; Bil, total bilirubin; PT, prothrombin time; NRM, nonrelapse mortality; OS, overall survival; GVHD, graft-versus-host disease; aGVHD, acute GVHD; cGVHD, chronic GVHD; CsA cyclosporine A; MMF, mycophenolate of mophetil; TCD, T cell depletion; nt, not tested; ns, nonsignificant; prof, prophylaxis.

^aVariables not tested in the MVA because they showed colinearity with other variables in the analysis. Other variables tested in the UVA included stem cell source, patient gender, CMV status, conditioning regimen, underlying disease, and severe renal impairment according to the HCT-CI criteria and ferritin levels ≥1000 ng/mL. These variables did not show a significance level of P ≤ .1 for any of the transplantation outcomes.

NRM and OS

We analyzed both early (100 days) and late NRM (4 years) (Table 2). Concerning early NRM, the cumulative incidence for the whole group was 11% (95% CI 9-15). Risk factors for 100-day NRM in the MVA were high bilirubin (HR 3.1 [95% CI 1.4-6.6], P = .004), high GGT levels (HR 3.4 [95% CI 1.8-6.3], P < .001), and high-risk disease at SCT (HR 1.5 [95% CI 1.1-2.1], P = .01). Cumulative incidence of late NRM for all patients was 30% (95% CI 26-35). Patients with high bilirubin and GGT levels also showed higher 4-year NRM in the UVA, but only the former remain significant in the MVA (HR 2 [95% CI 1.1-3.8], P = .03), whereas GGT showed a trend (HR 1.6 [95% CI 0.9-2.3], P = .09). Other risk factors for 4-year NRM in the MVA were age at transplantation >60 years (HR 2.1 [95% CI 1.4-3.1], P < .001) and alternative donors (HR 2.1 [95% CI 1.4-3.1], P < .001). Patients with and without renal impairment and high ferritin levels before transplantation showed similar NRM and OS.

To confirm the independent predictive role of GGT and bilirubin levels, we excluded a possible colinearity between them. A total of 398 patients (88%) had mild or normal GGT and bilirubin levels. High GGT and mild or normal bilirubin levels were found in 35 patients (8%), whereas the opposite was detected in 18 patients (4%). Only 4 patients (1%) had both high GGT and bilirubin levels (P = .12).

Forty-three (9%) patients were considered to have severe hepatic disease according to the HCT-CI crite-

ria. Patients with severe hepatic disease showed higher NRM (HR 1.9 [95% CI 1.1-3.1], P = .01) but similar OS (HR 1.4 [95% CI 0.9-2.2], P = .1) than those without (Figure 2).

A total of 133 patients (29%) experienced NRM during follow-up. Morality causes were available for 128 patients (96%). The most common causes of NRM were GVHD and infections (49 patients died from GVHD with infection, 44 from infection without GVHD, and 26 from GVHD without infection). Four patients died because of severe hepatic disease not related to GVHD or infections. Among them, 2 patients died because of venoocclusive disease, 1 because of toxic hepatitis related to cyclophosphamide-based conditioning, and 1 because of late unexplained severe hepatic insufficiency (necropsy was not performed). Other causes of NRM included renal microangiopathy (n = 2), stroke (n = 2), and suicide (n = 1).

The probability of OS at 4 years for all patients was 48% (95% CI 45-51). In the MVA, the factors associated with lower OS were: high GGT levels (HR 2 [95% CI 1.4-3], P < .001), alternative donors (HR 1.6 [95% CI 1.2-2.3], P = .004), older patients (HR 1.6 [95% CI 1.2-2.2], P = .003), and male recipients from female donors (HR 1.4 [95% CI 1-1.8], P = .04).

We analyzed the impact of the dose of busulfan on transplantation outcomes. Among 151 patients receiving fludarabine and busulfan as conditioning regimen, 19 patients received busulfan at 8 mg/kg, whereas 132 received 10 mg/kg. Patients receiving busulfan at 10

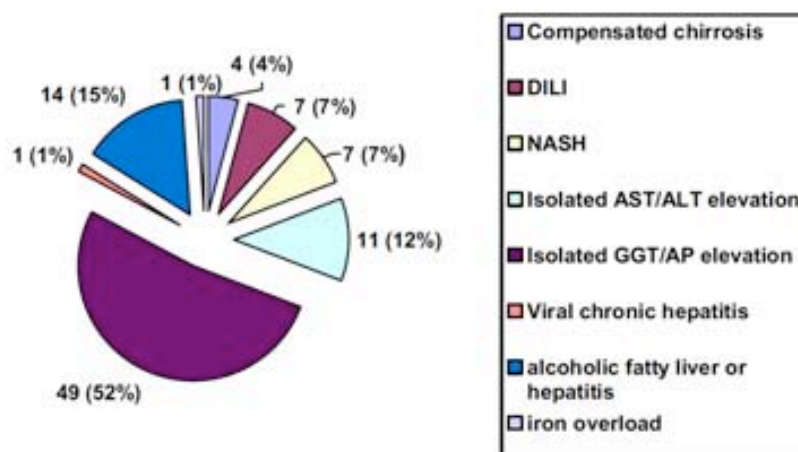


Figure 1. Pretransplantation hepatic underlying diseases in patients with abnormal pretransplantation liver function tests. Causes of pretransplantation hepatic disease in the 94 patients who presented at least 1 severe liver test abnormality before transplantation. Numbers in the figures represent the total number of patients and the prevalence of each category (%). Abbreviations: DILI, drug-induced liver injury; NASH, nonalcoholic steatohepatitis; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; GGT, gamma glutamyl transpeptidase; AP, alkaline phosphatase.

mg/kg were younger than patients receiving 8 mg/kg (median age 53 years [range: 18-69] versus 65 years [range: 61-70], $P < .001$). Patients receiving busulfan at 8 mg/kg and 10 mg/kg showed similar 4y-NRM (HR 1.1 [95% CI 0.7-1.8], $P = .7$) and OS (HR 0.9 [95% CI 0.7-1.3], $P = .6$). Furthermore, when compared with all other patients in the cohort, patients receiving busulfan at 10 mg/kg also showed similar NRM and OS (details not shown).

Relapse

Cumulative incidence of relapse at 4 years was 32% (95% CI 28-36). Relapse rates were not different between patients with and without severe hepatic abnormalities before transplantation (HR 1.1 [95% CI 0.7-1.7], $P = .6$).

DISCUSSION

The present study describes the incidence and characteristics of hepatic dysfunction before transplantation and analyzes the impact of each liver test abnormality on transplantation outcomes in a relatively homogeneous cohort of allo-SCT recipients. To our knowledge, this is the largest study regarding hepatic dysfunction before allo-SCT and its impact on transplantation outcomes.

Overall, 94 (21%) patients had at least 1 liver test abnormality before transplantation. The most frequent liver test abnormalities were high GGT and AP levels. INR abnormalities were found in only 5 (1%) patients, probably because coagulation abnormalities appear in a final stage of liver disease and patients in this condition are usually not considered for allo-SCT. According to the HCT-CI criteria, 43 patients (9%) were included in the severe hepatic disease

category, which was similar to the reported prevalences in other studies using the same criteria, which ranged between 4% and 16% of the patients [2,5,25].

The current study highlights that high AST, ALT, and AP levels had no apparent impact on transplantation outcome. On the contrary, bilirubin and GGT levels showed deleterious effects in this cohort of unselected allo-RIC recipients. These results led us to several conclusions.

First, AST and ALT levels before transplantation were not useful in predicting mortality and survival after the procedure in our patients. AST and ALT are sensitive indicators of liver-cell injury and are helpful in determining hepatocellular damage. AST is produced in several organs such as the liver, cardiac muscle, and the kidneys. ALT is thought to be more specific than AST because it is present mainly in the cytosol of the liver and in very low concentrations elsewhere [26]. These enzymes are routinely used in clinical practice to evaluate liver function before SCT. However, very few studies have evaluated the impact of pretransplantation transaminases on the outcome of the procedure. In contrast with our findings, other groups have identified pretransplantation levels of ALT and AST as a risk factor for survival after allo-SCT [3,27]. Because of this controversy, we think that the elucidation of the predictive role of transaminases in the allo-SCT setting requires further studies.

Second, the bilirubin level was a strong predictor of mortality in our series. Bilirubin has also been used to predict outcome in solid organ transplantation [28] and other settings such as colorectal cancer [29]. In light of our results, we support the use of bilirubin in the pretransplantation evaluation of SCT candidates.

Third, in our patients, GGT levels seemed to be related with worse outcome of the procedure. GGT

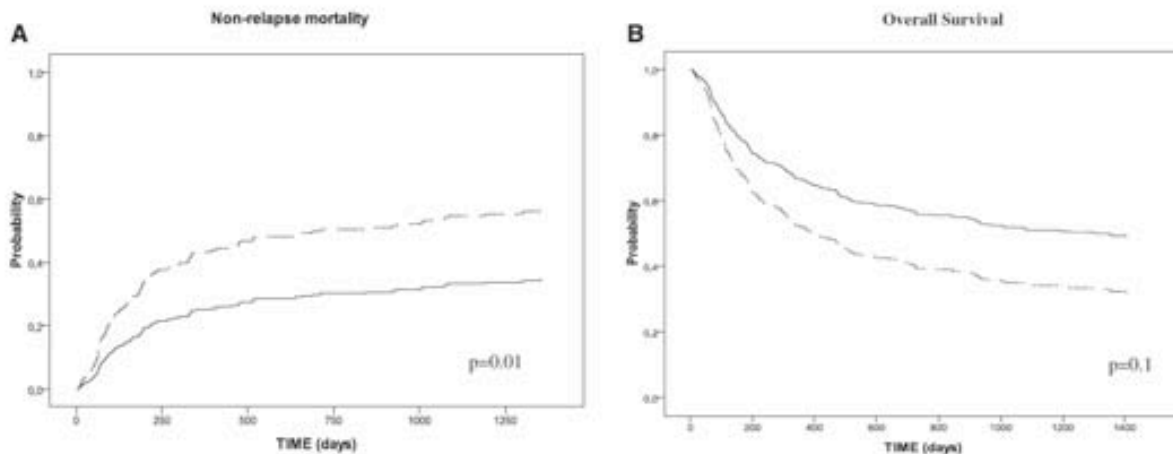


Figure 2. Impact of pretransplantation hepatic dysfunction on transplantation outcomes. Impact of the HCT-CI criteria for severe hepatic disease on NRM (A) and OS (B). Dashed lines indicate severe abnormalities of liver function tests; continuous lines indicate normal or mild liver function tests, according to the original definition of the HCT-CI.

is a marker of bile flow obstruction, and it is found in hepatocytes and biliary epithelial cells. In clinical practice, GGT is thought to be a hypersensitive marker of hepatic disease and its usefulness is sometimes considered limited by its lack of specificity [30]. However, recent epidemiologic prospective studies showed that serum GGT predicted the appearance of several diseases and mortality from all causes in different populations [31-34]. Recently, Ruhl and Everhart performed a death certificate-based study among 14,950 patients in the United States. They found an association between elevated GGT and mortality from all causes, liver disease, cancer, and diabetes, whereas ALT was only associated with liver disease mortality [34]. Biologic mechanisms explaining these findings are not clear. Some have suggested that serum GGT might be an early marker of oxidative stress because cellular GGT is linked to metabolism of glutathione (GSH), the most abundant intracellular antioxidant [35]. Another explanation is that serum GGT might act as a cumulative biomarker of various environmental toxics, because GSH is critical to conjugate chemicals [36]. To our knowledge, this is the first study demonstrating that high levels of GGT might be an independent risk factor for mortality and survival in allo-SCT recipients. In view of our results, we think that GGT should be taken into account when evaluating liver function before transplantation. However, its impact on transplantation outcomes should be validated by other groups and in other transplant settings.

Regarding GVHD, the only hepatic variables associated with higher occurrences were high GGT levels for aGVHD and high ALT levels for cGVHD. The production of free radicals and oxidative stress have been identified as physiopathologic phenomena of aGVHD *in vitro* [37]. The aforementioned association among GGT, GSH, and oxidative stress might partially

explain the higher occurrence of aGVHD in patients with high GGT levels, but further studies should be performed to confirm this hypothesis. Concerning cGVHD, these results have to be taken with caution for several reasons. First, 14 (36%) and 8 (36%) patients with high levels of GGT and bilirubin, respectively, died before day +100 and were not evaluable for the analysis of cGVHD. Thus, the impact of these 2 markers on cGVHD might have been underestimated because of low number of patients. Second, data about the specific organ involvement of cGVHD was unfortunately not available. We cannot exclude that ALT predicted only hepatic cGVHD but no other organ's involvement. As in aGVHD, more research is mandatory to clarify the impact of hepatic dysfunction on cGVHD.

Pretransplantation predictive models, including hepatic dysfunction, use a wide range of definitions of this condition. For the HCT-CI, patients with severe hepatic disease showed higher 4y-NRM but similar OS than patients with mild or no hepatic disease before SCT. Because patients with high bilirubin levels alone showed similar results (Table 2), we cannot exclude that the predictive capacity of the HCT-CI liver disease category in our patients may have been limited to bilirubin levels, whereas transaminases would have had little effect. However, because others have shown the impact of transaminases [3,27] on transplantation outcomes, we consider that further research is necessary to determine the best indicators of liver dysfunction to be included in the comorbidity indexes.

One of the main limitations of this study is that not all comorbid conditions in the HCT-CI were included in the MVA because of insufficient data in the databases. Thus, we cannot completely exclude that patients with abnormal liver function also had other organ dysfunctions. However, we performed a subgroup analysis of 194 consecutive patients from one center with

available data of all comorbid conditions included in the HCT-CI (published recently) [7]. In these patients, the impact of the severe hepatic disease category of the HCT-CI remained significant in the MVA including all other comorbidities (details not shown). Thus, at least in this subgroup of patients, the impact of liver dysfunction was not dependent on the presence of other comorbidities. Other limitations of the present study are derived from its retrospective nature.

Finally, the results of the present study and of other reports, such as the development of pretransplantation predictive models of mortality (HCT-CI and PAM score, for example), argue in favor of creating future strategies to adapt the transplantation procedure to high-risk patients based on pretransplantation characteristics. However, the translation of all these findings into clinical practice appears as a great challenge for clinicians and investigators. Some efforts have been made in this direction including the use of defibrotide, N-acetyl-L-cysteine, ursodeoxycholic acid, and heparin to prevent some hepatic complications after SCT, such as veno-occlusion disease (VOD) [38-41]. Development of pharmacogenetic studies in high-risk patients or the reduction in dosage of hepatotoxic drugs in patients with abnormal liver function before transplantation may appear as clinical options [42,43]. From our perspective and based on the reported evidence, we think that the combination of prophylactic ursodeoxycholic acid and a careful management of hepatotoxic drugs would be a reasonable prevention strategy in patients with pretransplantation abnormal liver function. However, the usefulness of these strategies should be assessed in clinical trials.

In conclusion, pretransplantation hepatic dysfunction has an impact on the outcome of allo-SCT, but the best indicator of liver dysfunction before allo-SCT is still unclear. However, in light of our results, we feel that GGT and bilirubin should be considered in the future predictive models.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial disclosure: J.L. Piñana is supported by a 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) and grant SGR09 1246 from AGAUR (Generalitat de Catalunya).

AUTHORSHIP STATEMENT

P.B. collected data, designed and coordinated the study, analyzed the data, and wrote the manuscript.

J.L.P. collected data, designed the study and analyzed the data. F.F.-A. collected data and coordinated the trial in his center. J.A.P.-S. conceived the transplant protocol and coordinated the trial in his center. R.M. conceived the transplant protocol and designed the study. E.L.-G. and X.V. contributed to the statistical analysis. D.V. designed the study and interpreted the data. M.R., L.L.C., and E.C. edited the study and interpreted the data. I.C.-V. reviewed the data and conceived the classification of pre-SCT hepatic diseases. L.L.A. and S.N. collected the data. J.S. designed and edited the study and interpreted the data. All authors critically reviewed the manuscript.

REFERENCES

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Xhaard A, Porcher R, Chien JW, et al. Impact of comorbidity indexes on non-relapse mortality. *Leukemia.* 2008;22:2062-2069.
- Carreras E. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: the liver as a risk factor. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2007;20:231-246.
- 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.
- 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.
- Piñana JL, Martino R, Gayoso J, et al. Reduced intensity conditioning HLA identical sibling donor allogeneic stem cell transplantation for patients with follicular lymphoma: long-term follow-up from two prospective multicenter trials. *Haematologica.* 2010;45:1449-1456.
- 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;108:836-846.
- 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.
- Storb RF, Champlin R, Riddell SR, Murata M, Bryant S, Warren EH. Non-myeloablative transplants for malignant disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2001;375-391.
- Giralt S, Ballen K, Rizzo D, Bacigalupo A, Horowitz M, Pasquini M, Sandmaier B. Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of

- a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:367-369.
14. 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.
 15. Przepiórka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15:825-828.
 16. Atkinson K, Horowitz MM, Gale RP, Lee MB, Rimm AA, Bortin MM. Consensus among bone marrow transplanters for diagnosis, grading and treatment of chronic graft-versus-host disease. Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *Bone Marrow Transplant*. 1989;4:247-254.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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 Transplantation*. 2009;44:749-756.
 20. National Cancer Institute. *Common Toxicity Criteria for Adverse Events, Version 3.0*. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2003.
 21. 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.
 22. 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.
 23. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53:457-481.
 24. Piñana JL, Valcárcel D, Fernández-Avilés F, et al. MTX or mycophenolate mofetil with CsA as GVHD prophylaxis after reduced-intensity conditioning PBSCT from HLA-identical siblings. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45:1449-1456.
 25. Pollack SM, Steinberg SM, Odum J, Dean RM, Fowler DH, Bishop MR. Assessment of the hematopoietic cell transplantation comorbidity index in non-Hodgkin lymphoma patients receiving reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:223-230.
 26. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician*. 2005;71:1105-1110.
 27. 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.
 28. Gries CJ, Rue TC, Heagerty PJ, Edelman JD, Mulligan MS, Goss CH. Development of a predictive model for long-term survival after lung transplantation and implications for the lung allocation score. *J Heart Lung Transplant*. 2010;29:731-738.
 29. Parodi L, Pickering E, Cisar LA, Lee D, Soufi-Mahjoubi R. Utility of pretreatment bilirubin level and UGT1A1 polymorphisms in multivariate predictive models of neutropenia associated with irinotecan treatment in previously untreated patients with colorectal cancer. *Arch Drug Inf*. 2008;1:97-106.
 30. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med*. 2000;342:1266-1271.
 31. Lee DH, Blomhoff R, Jacobs DR Jr. Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? *Free Radic Res*. 2004;38:535-539.
 32. Strasak AM, Rapp K, Brant LJ, et al. Association of gamma-glutamyltransferase and risk of cancer incidence in men: a prospective study. *Cancer Res*. 2008;68:3970-3977.
 33. Strasak AM, Goebel G, Concin H, et al. Prospective study of the association of serum gamma-glutamyltransferase with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer. *Cancer Res*. 2010;70:3586-3593.
 34. Ruhl CE, Everhart JE. Elevated serum alanine aminotransferase and gamma-glutamyltransferase and mortality in the United States population. *Gastroenterology*. 2009;136:477-85.e11.
 35. Lee DH, Jacobs DR Jr. Serum gamma-glutamyltransferase: new insights about an old enzyme. *J Epidemiol Community Health*. 2009;63:884-886.
 36. Lee DH, Jacobs DR. Is serum gamma-glutamyltransferase an exposure marker of xenobiotics? Empirical evidence with polycyclic aromatic hydrocarbon. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47:860-862.
 37. Amer J, Weiss L, Reich S, Shapira MY, Slavin S, Fibach E. The oxidative status of blood cells in a murine model of graft-versus-host disease. *Ann Hematol*. 2007;86:753-758.
 38. Barkholt L, Remberger M, Hassan Z, et al. A prospective randomized study using N-acetyl-L-cysteine for early liver toxicity after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41:785-790.
 39. Park SH, Lee MH, Lee H, et al. A randomized trial of heparin plus ursodiol vs heparin alone to prevent hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29:137-143.
 40. Ruutu T, Eriksson B, Remes K, et al. Nordic Bone Marrow Transplantation Group. Ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic complications in allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002;100:1977-1983.
 41. Chalandon Y, Roosnek E, Mermillod B, et al. Prevention of veno-occlusive disease with defibrotide after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10:347-354.
 42. Goekkurt E, Stoehlmacher J, Stueber C, et al. Pharmacogenetic analysis of liver toxicity after busulfan/cyclophosphamide-based allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Anticancer Res*. 2007;27:4377-4380.
 43. Rocha V, Porcher R, Fernandes JF, et al. Association of drug metabolism gene polymorphisms with toxicities, graft-versus-host disease and survival after HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for patients with leukemia. *Leukemia*. 2009;23:545-556.

Trabajo 3

Incidence, characteristics and risk factors of marked hyperbilirubinemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning.

Barba P, Martino R, Perez-Simón JA, Fernández-Avilés F, Piñana JL, Valcárcel D, Campos-Varela I, Lopez-Anglada L, Rovira M, Novelli S, Lopez-Corral L, Carreras E, Sierra J.

Bone Marrow Transplant. 2012;47:1343-9

ORIGINAL ARTICLE

Incidence, characteristics and risk factors of marked hyperbilirubinemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning

P Barba^{1,2,8}, R Martino¹, JA Perez-Simón^{3,4,8}, F Fernández-Avilés⁵, JL Piñana^{1,6,8}, D Valcárcel^{1,2,8}, I Campos-Varela⁷, L Lopez-Anglada³, M Rovira⁵, S Novelli¹, L Lopez-Corral³, E Carreras⁵ and J Sierra¹

To analyze the incidence, characteristics and risk factors of hyperbilirubinemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning (allo-RIC), we conducted a retrospective study in three Spanish centers. We analyzed 452 consecutive patients receiving allo-RIC. Of these, 92 patients (20%) developed marked hyperbilirubinemia (>4 mg/day or >68.4 μM) after allo-RIC. The main causes of marked hyperbilirubinemia after transplant were cholestasis due to GVHD or sepsis ($n = 57$, 62%) and drug-induced cholestasis ($n = 13$, 14%). A total of 22 patients with marked hyperbilirubinemia (24%) underwent liver biopsy. The most frequent histological finding was iron overload alone ($n = 6$) or in combination with other features ($n = 6$). In multivariate analysis, the risk factors for marked hyperbilirubinemia after allo-RIC were non-HLA-identical sibling donors (hazard ratio (HR) 2.2 (95% confidence interval (CI) 1.4–3.6) $P = 0.001$), female donors to male recipients (HR 2.1 (95% CI 1.3–3.3) $P = 0.003$) and high levels of bilirubin and γ -glutamyl transpeptidase before transplant (HR 4.5 (95% CI 2.5–8.4) $P < 0.001$ and HR 4.6 (95% CI 2.6–8.1) $P < 0.001$, respectively). Patients with marked hyperbilirubinemia showed higher 4-year nonrelapse mortality (HR 1.3 (95% CI 1–1.7), $P = 0.02$) and lower 4-year OS (HR 1.4 (95% CI 1.3–1.7), $P < 0.001$) than patients without. In conclusion, we confirm that marked hyperbilirubinemia is frequent and diverse after allo-RIC. Development of marked hyperbilirubinemia after allo-RIC is associated with worse outcome of the procedure.

Bone Marrow Transplantation (2012) 47, 1343–1349; doi:10.1038/bmt.2012.25; published online 5 March 2012

Keywords: liver function; hepatic; hyperbilirubinemia; reduced-intensity conditioning SCT; allo-RIC; HCT-CI

INTRODUCTION

Liver function test abnormalities are commonly observed after allo-SCT. The severity of these abnormalities may range from mild and transient cholestasis due to pharmacological toxicity to severe and lethal hepatic failure related to acute GVHD (aGVHD). Cholangitis lenta due to sepsis, veno-occlusive disease (VOD), iron overload and base-line disease liver involvement appear as other causes of liver injury after SCT.^{1–5} Because some of these situations often coexist at the same time point and liver biopsies are not routinely performed in this population of patients (mainly because of thrombocytopenia and/or unstable medical condition of many patients), the diagnosis of liver injury after allo-SCT is commonly difficult.^{5,6}

Reduced-intensity conditioning (RIC) regimens are known to be less toxic than conventional myeloablative conditionings and have made performing allo-SCT possible in patients who, otherwise, would not have been considered eligible for transplantation. However, as RIC allo-SCT (allo-RIC) is usually performed in elderly, unfit or heavily pretreated patients, organ toxicities are still frequent and may limit its use.^{7–9} Despite these concerns, very few studies regarding liver function after transplantation have been conducted in the RIC setting.^{1,2}

With an attempt to reach a better understanding of liver injury in the allo-RIC setting, we conducted a study in a large population of allo-RIC recipients with a long follow-up receiving a highly homogeneous treatment. We focused on patients with hyperbilirubinemia (bilirubin >68.4 μM) after allo-RIC and tried to describe its incidence, characteristics, risk factors and impact on transplant outcomes.

PATIENTS AND METHODS

The study included 452 consecutive adult patients who received an allo-RIC in three transplant centers in Spain (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Hospital Clínic, Barcelona and Hospital Universitario, Salamanca) between February 1998 and November 2008. The transplant protocols were approved by national and local ethics committees, and patients gave written informed consent for their inclusion in each protocol.

Conditioning regimen, GVHD prophylaxis and supportive care management

The transplant protocol has been published elsewhere.^{10,11} In brief, the conditioning regimen included fludarabine (150 mg/m²) in combination with melphalan (70–140 mg/m²; lymphoid malignancies and multiple

¹Department of Hematology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, Barcelona, Spain; ²Division of Clinical Hematology, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ³Hospital Clínic Salamanca, Spain; ⁴Hospital Universitario Virgen del Rocío/IBIS, Sevilla, Spain; ⁵Hospital Clínic, Barcelona, Spain; ⁶Hospital de Manises, Valencia, Spain; ⁷Liver Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Centro de Investigación Biomedica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁸Current center. Correspondence: Dr P Barba, Division of Clinical Hematology, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Pg. Vall d'Hebron 119-129, Barcelona 08035, Spain. E-mail: pebarba@vhebron.net

Received 11 July 2011; revised 17 January 2012; accepted 19 January 2012; published online 5 March 2012

myeloma) and BU (8–10 mg/kg; myeloid malignancies, except for CML). Patients with CML and solid organ malignancies were excluded from the protocol and received fludarabine with low-dose TBI 2 Gy or CY, respectively. Despite the fact that some patients had received fludarabine in combination with oral BU at 10 mg/kg, pharmacokinetic dosage adjustment of BU was performed to ensure a similar steady-state concentration (range 800–1000 ng/mL),¹² irrespective of the final dose administered. Patients receiving BU at 10 mg/kg showed similar outcomes than patients receiving 8 mg/kg, as published recently.¹³ Thus, as all patients were exposed to a similar concentration of BU, we included in the current study such conditioning as a RIC regimen. GVHD prophylaxis included CsA plus MTX or CsA plus mycophenolate mofetil. CsA was started on day -7 at a dose adjusted to blood levels (between 200 and 300 ng/mL) determined by chemiluminescent microparticle immunoassay. MTX was administered on days +1, +3 and +6 (10 mg/m², followed by folinic acid rescue). Mycophenolate mofetil was started on day 0 (at least 10 h after infusion of progenitors) at a dose of 15 mg/kg every 8 h and continued until day +30. *In vivo* T-cell depletion with antithymocyte globulin was used in patients receiving a transplant from HLA-mismatched related or unrelated donors.

Acyclovir, fluconazole and quinolones (ciprofloxacin or norfloxacin) were administered from day -1 and until neutrophil recovery as infectious prophylaxis. CMV infection screening (using antigenemia pp65 before 2003 and reverse transcriptase-PCR after that year) for guiding pre-emptive therapy was performed as described elsewhere in detail.¹⁴ Galactomannan Platelia assay (Bio-Rad Laboratories, Marnes-La-Coquette, France) in blood samples was routinely performed since 2003.¹⁵ No prophylactic ursodeoxycholic acid or any other agent to prevent liver injury was used in any of the centers during the study period.

Management of liver dysfunction

Pretransplant screening of liver function has been published¹³ and included determinations of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), bilirubin, alkaline phosphatase, γ -glutamyl transpeptidase (GGT), albumin levels, total and conjugated bilirubin, international normalized ratio, hepatitis B surface antigen, hepatitis B core antibodies and antibodies against hepatitis C virus as well as imaging studies if necessary. High levels of AST, ALT, GGT and alkaline phosphatase liver tests were considered when $>2.5 \times$ upper normal limit (UNL) and for bilirubin when $>1.5 \times$ UNL. Abnormal international normalized ratio was considered when higher than UNL. Albumin levels were treated as continuous and dicotomic variables (cutoff point in the median level, 40 g/L).

AST, ALT, alkaline phosphatase, GGT, albumin levels and total and conjugated bilirubin were screened daily during hospitalization and at every visit during outpatient management. International normalized ratio was determined at least weekly during the first 3 months of follow-up. In case of liver test abnormalities, patients underwent imaging studies (ultrasonography or computed tomography scan) and microbiological studies (CMV antigenemia/PCR, blood cultures and other viral PCR studies, that is, adenovirus and human herpesvirus 6) according to the clinical presentation. If VOD was suspected, hepatic venous pressure gradient was performed. Liver biopsy was considered in patients with no clear cause of hepatic disease and with an acceptable estimated risk of developing severe complications.

Review of the data and diagnostic criteria of liver disease

Medical charts were retrospectively reviewed by one investigator in each center. Patients with severe liver dysfunction were also reviewed by a hepatologist (IC-V). Bilirubin levels were given in the International System of Units. Patients presenting bilirubin peaks between 22 and 68.3 μ M (1.3–3.9 mg/dL) were considered to have mild bilirubin levels, whereas patients with bilirubin peaks $>119.7 \mu$ M (7 mg/dL) were considered to have very high bilirubin levels as described.¹ As mild bilirubin abnormalities (22–68.3 μ M) are very frequent, often transient and very difficult to characterize after allo-SCT, its clinical and pathological characteristics were not analyzed. Hyperbilirubinemia was considered in patients presenting

maximal total serum bilirubin level of $\geq 68.4 \mu$ M (4 mg/dL) according to previous studies.^{1,2} For clarification purposes, the term *hyperbilirubinemia* in this manuscript refers to patients with marked elevation of bilirubin levels (>4 mg/day or $>68.4 \mu$ M), although by definition all patients with bilirubin levels above the UNL would have hyperbilirubinemia. Patients with previously known Gilbert's syndrome or hyperbilirubinemia due to hemolysis were excluded.

Regarding causes of hyperbilirubinemia, cholestasis was attributed to GVHD when the patient had histologically demonstrated GVHD in the liver or in another organ, or sepsis in those patients with clinical or analytical signs of active infection. As GVHD and infections are frequently presented at the same time in a particular patient, we decided to combine these abnormalities in a single entity as previously described.² Drug-induced cholestasis was considered in patients without evidence of GVHD or infection presenting hyperbilirubinemia during or shortly after conditioning regimen or within the first week after beginning of a recently introduced and well-characterized hepatotoxic drug. CsA-related hyperbilirubinemia was considered in (1) patients with blood levels above the upper limit of target range (300 ng/mL) who presented an improvement of hyperbilirubinemia after reduction of CsA dose or (2) patients with blood levels within the optimal range who lowered their bilirubinemia after discontinuation of the drug. Cholestasis due to viral infection was considered in those patients presenting CMV or other active hepatotropic viral infection (detected in the liver or in other organs) and those with microbiological or histological findings of viral infection in liver biopsy. VOD was diagnosed according to the Seattle criteria.¹⁶ Regarding iron overload, patients were included in this category if they had one of the following: (1) liver biopsy or magnetic resonance imaging suggesting severe iron deposits or (2) high levels of serum ferritin, no other attributed causes of hyperbilirubinemia and improvement of bilirubin levels after chelation therapy or phlebotomies. Finally, when no agreement in the causes of hyperbilirubinemia was reached between the local reviewer and the central reviewer (hepatologist, IC-V), we included the event in the OTHERS category except for GVHD and sepsis (as explained). Despite its limitations and for clarification purposes, we attributed a single cause of hepatic disease to every hyperbilirubinemia event following the classification mentioned above, although other secondary causes might have contributed to the event. This strategy has been followed by other groups in their studies regarding liver dysfunction in the allo-SCT setting.^{1,2}

Time to bilirubin peak was calculated from the day of hematopoietic cell infusion to the day of maximum peak of bilirubin levels. This information was only included for description purposes as comparisons between patients dying of or surviving from the hyperbilirubin event might be impaired with this indicator.

End points and statistical analysis

The primary end point of the study was to determine the impact of hyperbilirubinemia on the outcome of allo-SCT. Secondary end points were to classify and describe hepatic dysfunction after transplant, and to determine its frequency and risk factors.

OS was defined as being alive at latest follow-up and calculated from day 0 of the transplant. Nonrelapse mortality (NRM) was defined as the time from day 0 of the transplant to death from any cause but relapse. The incidences of hyperbilirubinemia, aGVHD, chronic GVHD, NRM and relapse were calculated using cumulative incidence estimates, taking into account the competing risk model.^{17,18} The development of hyperbilirubinemia and GVHD after SCT were treated as time-dependent covariates to evaluate their impact on the outcome of allo-SCT. Patients dying before engraftment and before day +100 were not considered for aGVHD and chronic GVHD analysis, respectively. The probability of OS was estimated from the time of transplantation using Kaplan-Meier curves¹⁹ and compared using the log-rank test. Comparison of characteristics between the causes of hyperbilirubinemia was performed using 2×2 tables made using χ^2 or Fisher's exact *t*-tests for dichotomic variables and *t*-test for continuous variables. Univariate Cox regression model was used to estimate risk factors for hyperbilirubinemia. The multivariate analysis (MVA) was performed taking into account the competing risk structure

with relapse being a competitive event for NRM, the development of hyperbilirubinemia, VOD, aGVHD and chronic GVHD. Pretransplant variables with a significance level of $P < 0.1$ in the univariate analysis were included in the MVA where a significance level of $P < 0.05$ was required.

All statistical analyses were performed using SPSS, version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA), with the exception of the cumulative incidence analyses, which were carried out with NCCS 2004 (Number Cruncher Statistical System, Kaysville, UT, USA).

RESULTS

Patient characteristics

Pretransplant patient characteristics are summarized in Table 1 and did not differ between centers. Median follow-up for survivors was 52 months (range 3–123).

Table 1. Patient characteristics and transplant outcomes

Variables	Patients = 452
Median age, years (range)	53 (16–71)
Gender, male, n (%)	274 (61)
Female donor to male recipient	116 (26)
Underlying disease, n (%)	
AL or MDS/MPS	178 (39)
Hodgkin's lymphoma	58 (13)
NHL and CLL	130 (29)
Multiple myeloma	72 (16)
Others	14 (3)
Advanced risk disease at HSCT, n (%) ^a	286 (63)
Recipient/donor CMV serology, n (%)	
Recipient and donor negative	51 (11)
Recipient and/or donor positive	401 (89)
Donor type, n (%)	
HLA-identical sibling	360 (80)
Alternative ^b (VUD or MM related)	92 (20)
Conditioning regimen, n (%)	
Fludarabine/melphalan	273 (60)
Fludarabine/BU	151 (33)
PBSCs, n (%)	431 (95)
GVHD prophylaxis, n (%)	
CsA/MTX	294 (65)
CsA/MMF	131 (29)
Transplant outcomes	
Cum. Inc. acute GVHD II–IV, % (95% CI)	25 (22–29)
Cum. Inc. chronic GVHD at 4 years, % (95% CI)	51 (46–57)
Cum. Inc. relapse at 4 years, % (95% CI)	33 (29–36)
Cum. Inc. NRM at 4 years, % (95% CI)	30 (26–35)
Probability of 4-year OS, % (95% CI)	47 (45–50)
Median follow-up for survivors, months (range)	52 (3–123)

Abbreviations: ATG = antithymocyte globulin; CI = confidence interval; Cum. Inc. = cumulative incidence; HSCT = hematopoietic SCT; MDS = myelodysplastic syndrome; MM = HLA mismatch; MMF = mycophenolate mophetil; MPS = myeloproliferative syndrome; NHL = non-Hodgkin's lymphoma; NRM, nonrelapse mortality; VUD = volunteer unrelated donor. ^aAdvanced (or non-early) disease status was considered in patients with acute leukemia in ≥ 2 nd CR, myeloproliferative disease in ≥ 2 nd chronic phase and in accelerated or blast phase, Hodgkin's disease in ≥ 3 rd remission or with PR, follicular lymphoma ≥ 3 rd CR, large B-cell lymphoma or multiple myeloma ≥ 2 nd CR or PR and solid tumors. Patients with PR or persistent disease at transplantation (except for myeloma) were also considered as advanced disease status. ^bDonors other than HLA-identical siblings.

Causes of hyperbilirubinemia

Bilirubin levels above the UNL were found after allo-RIC in 360 patients (80%). In all, 268 patients (59%) presented mild hyperbilirubinemia (22–68.3 μM). A total of 92 patients (20%) developed hyperbilirubinemia after allo-SCT for a 4-year cumulative incidence of 21% (95% confidence interval (CI) 19–23). Median time to bilirubin peak after allo-RIC was 96 days (range 0–1251). Cholestasis due to GVHD or sepsis was found in 57 patients (62%), drug-induced cholestasis in 13 (14%), cholestasis due to viral infection in 5 (5%; 4 CMV and 1 EBV reactivations) and VOD in 4 patients (4%; Table 2). A total of 13 (14%) patients presented other causes of hyperbilirubinemia. Severe liver injury due to iron overload and hepatic involvement of baseline hematological disease (non-Hodgkin's lymphoma) were found in 3 (3%) patients each. The remaining patients presented immune hepatitis (1), hepatic involvement of post transplant lymphoproliferative disorder (1) and liver injury of unknown origin (1). Four (4%) patients were included in the unknown category as it was not possible to determine a cause of liver disease despite all diagnostic examinations. Liver biopsy in three out of these four patients revealed only mild iron overload, which was not considered to be the cause of hyperbilirubinemia by the investigators.

Regarding the time of onset and intensity of bilirubin peak, patients with cholestasis due to GVHD or sepsis seemed to show later peak median of 109 days (range 9–1220) vs 26 days (range 1–455) and reached a higher bilirubin peak median of 150.5 μM (range 73.5–1149) vs 85.5 μM (range 68.4–292.4, $P = 0.04$) than patients with drug-induced cholestasis.

Regarding VOD, 4 (4%) patients with hyperbilirubinemia and 6 patients in the whole cohort (1.3%) met the diagnostic criteria at a median of 15 days (range 2–28). Conditioning regimen consisted of fludarabine and melphalan in three and fludarabine and BU in three patients. Four of the six patients presenting VOD had undergone previous autologous transplantation.

A total of 23 biopsy samples from 22 patients with hyperbilirubinemia (24%) were available (19 liver biopsies and 4 necropsies). A definitive histopathological diagnosis was obtained in 22 samples (96%). In one patient, insufficient liver tissue to make a clear diagnosis was obtained. The details of histopathological findings and diagnostic procedures are summarized in Table 3. No severe biopsy-related adverse events occurred in patients undergoing liver biopsy.

Outcome

NRM. A total of 132 patients (29%) experienced NRM at median follow-up. Cumulative incidence of 4-year NRM was 30% (95% CI 26–35). The most common causes of NRM were GVHD and infections (51 patients died from GVHD with infection, 45 from infection without GVHD and 27 from GVHD without infection). Other causes of NRM included renal microangiopathy ($n = 2$), stroke ($n = 2$) and suicide ($n = 1$).

Four patients died because of severe hepatic disease not related to GVHD or infections. Among them, two patients died because of VOD, one because of toxic hepatitis related to CY-based conditioning and one because of unexplained severe hepatic failure before engraftment (necropsy was not performed).

In the MVA, patients presenting hyperbilirubinemia had higher 4-year NRM than patients without hyperbilirubinemia (hazard ratio (HR) 1.3 (95% CI 1–1.7) for a cumulative incidence of 78% (95% CI 73–83) vs 22% (95% CI 19–25), $P = 0.02$; Figure 1). Other variables associated with higher 4-year NRM in the MVA were non-HLA-identical sibling donors (HR 2.3 (95% CI 1.5–3.5), $P < 0.001$), female donors to male recipients (HR 1.7 (95% CI 1.1–2.4), $P = 0.01$), patients > 60 years of age (HR 1.9 (95% CI 1.2–2.9), $P = 0.005$), the development of grade II–IV acute GVHD (HR 1.8 (95% CI 1.3–2.6), $P < 0.001$) and VOD (HR 2.9 (95% CI 1.1–6.6),

Table 2. Clinical features of most representatives causes of hyperbilirubinemia

Causes of hyperbilirubinemia	Patients, n (%)	Median time peak, days (range) ^a	Bilirubin peak, μM (range) ^b	Bilirubin peak > 119.7 μM , n (%)	NRM 4 years, % (95% CI)	OS 4 years, % (95% CI)
Cholestasis GVHD or sepsis	57 (62)	109 (9-1220)	151 (74-1149)	38 (67)	78 (72-82)	19 (15-24)
Drug-induced cholestasis	13 (14)	26 (1-455)	86 (69-292)	2 (4)	62 (44-80)	15 (5-25)
Viral infection	5 (5)	62 (14-1251)	152 (77-200)	3 (5)	74 (54-94)	20 (2-38)
VOD	4 (4)	15 (2-28)	165 (131-486)	4 (7)	100 (100-100)	0 (0-0)
Other	13 (14)	99 (0-1081)	170 (91-262)	10 (17)	23 (9-37)	21 (9-33)
All	92 (100)	96 (0-1251)	149 (69-1149)	57 (100)	78 (73-83)	18 (12-22)

Abbreviations: CI = confidence interval; NRM = nonrelapse mortality; VOD = veno-occlusive disease. ^aMedian time of presentation of bilirubin peak after transplantation. ^bMedian peak. Drug-induced cholestasis included CsA-related cholestasis in eight patients. Other drug-related cholestasis included voriconazole (2), fluconazole (1), omeprazole (1) and rifampicin (1). Viral infection included 3 CMV and 1 EBV reactivation and 1 end-stage liver disease associated with acute hepatitis B virus (HBV)-related hepatitis.

Table 3. Histopathological analysis of hepatic specimens

Histopathological findings ^a	n (%)	Diagnostic method (n)
IO	6 (26)	Liver biopsy (6)
IO + liver fibrosis	2 (9)	Liver biopsy (1), necropsy (1)
IO+ mixed portal inflammation	1 (4)	Necropsy (1)
IO + centrilobular hepatocyte necrosis	1 (4)	Necropsy (1)
IO + NHL infiltrate	1 (4)	Necropsy (1)
Mixed portal inflammation	3 (13)	Liver biopsy (1)
Liver fibrosis	2 (9)	Liver biopsy (1)
Cholestasis	2 (9)	Liver biopsy (1)
Bile duct obstruction	1 (4)	Liver biopsy (1)
Centrilobular hepatocyte necrosis	1 (4)	Liver biopsy (1)
Cholangitis	1 (4)	Liver biopsy (1)
PTLD infiltration	1 (4)	Liver biopsy (1)
Nondiagnostic	1 (4)	Liver biopsy (1)
All	23 (100)	Liver biopsy (19), necropsy (4)

Abbreviations: IO = iron overload; NHL = non-Hodgkin's lymphoma; PTLD = post transplant lymphoproliferative disorder. ^aOnly predominant histopathological finding/s in every specimens. GVHD was diagnosed in 7 patients including 1 patient with cholestasis, 2 patients with centrilobular hepatocyte necrosis and 4 patients with mixed portal inflammation as the main histopathological finding.

$P=0.02$). Baseline disease, conditioning regimen, GVHD prophylaxis, advanced disease status at SCT, use of T-cell depletion in the conditioning regimen and stem cell source did not have an impact on NRM or OS in the MVA. Patients with mild hyperbilirubinemia (22-68.3 μM) also showed higher 4-year NRM than patients without bilirubin abnormalities (HR 2.5 (95% CI 1.5-4.4), $P=0.001$).

OS and relapse. At median follow-up, a total of 216 (48%) patients were alive for a probability of 4-year OS of 47% (95% CI 45-50). In the MVA, patients with hyperbilirubinemia ($\geq 68.4 \mu\text{M}$) had a lower 4-year OS than patients without ($< 68.4 \mu\text{M}$); HR 1.4 (95% CI 1.3-1.7) for a probability of 18% (95% CI 12-22) vs 58% (95% CI 54-61), $P<0.001$; Figure 1). Other risk factors for lower OS were non-HLA-identical sibling donors (HR 1.8 (95% CI 1.3-2.5), $P=0.001$), patients >60 years of age (HR 1.6 (95% CI 1.1-2.2), $P=0.006$) female donors to male recipients (HR 1.4 (95% CI 1-1.8), $P=0.04$) and the development of grade II-IV aGVHD (HR 1.5 (95% CI 1.3-1.9), $P<0.001$). Patients with mild bilirubin abnormalities (22-68.3 μM) also showed lower 4-year OS than patients with

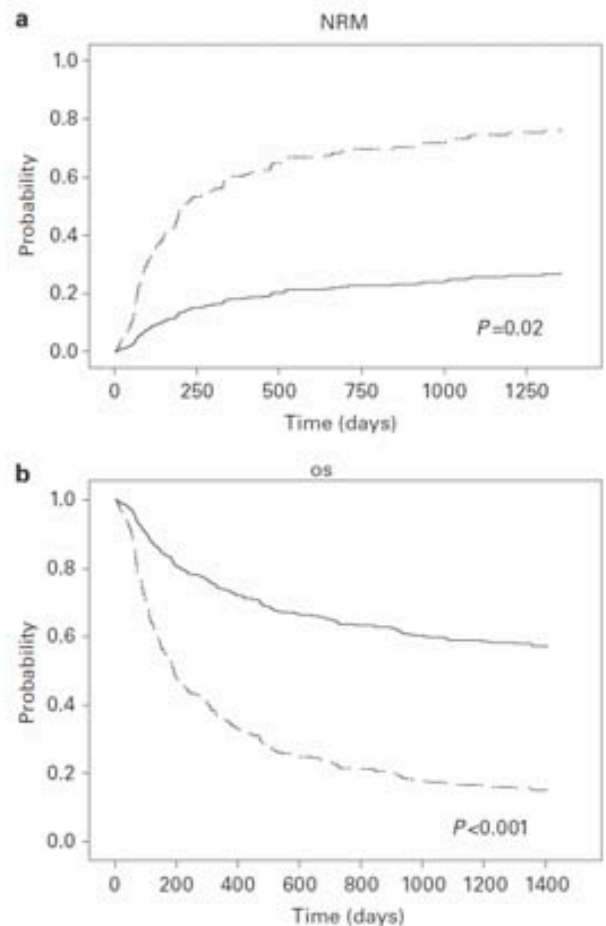


Figure 1. Impact of hyperbilirubinemia on NRM and OS. Probability of NRM (a) and OS (b) according to the development of hyperbilirubinemia after transplantation. Continuous line indicates patients without hyperbilirubinemia after transplant, whereas dashed line indicates patients developing hyperbilirubinemia after transplantation. The P-value obtained in the multivariate analysis is shown.

normal bilirubin levels ($< 22 \mu\text{M}$) during follow-up (HR 1.6 (95% CI 1.2-2.3), $P=0.005$).

Globally, 151 (33%) patients experienced relapse of the underlying disease, for a cumulative incidence of 33% (95% CI 29-37).

Table 4. Univariate and multivariate analysis of potential pretransplant risk factors for the development of hyperbilirubinemia after allo-SCT

Variable	HR	P-value	Variable	HR	P-value
<i>Univariate analysis</i>					
<i>Age</i>			<i>TCD</i>		
≥ 60 years	1.4 (0.8-2.3)	0.2	Yes	1.5 (0.8-2.9)	0.2
<i>Donor</i>			<i>Ferritin at SCT*</i>		
Alternative	2 (1.2-3.2)	0.008	> 1000 ng/mL	1.6 (0.8-3)	0.2
<i>Disease</i>			<i>Albumin at SCT</i>		
AL/MDS	1.1 (0.7-1.9)	0.4	< 40 mg/dL	1 (0.6-1.6)	1
Con. Reg			<i>AST at SCT</i>		
Flu/BU	1.1 (0.7-1.7)	0.7	> 2.5 × UNL	1.3 (0.3-5)	0.8
<i>GVHD prof.</i>			<i>ALT at SCT</i>		
CsA/MMF	1.8 (1.1-2.9)	0.01	> 2.5 × UNL	2 (0.9-4.6)	0.1
<i>CMV status</i>			<i>GGT at SCT</i>		
D/R pos	1.8 (0.7-4.4)	0.2	> 2.5 × UNL	4.7 (2.7-8.1)	<0.001
<i>Risk disease</i>			<i>AP at SCT</i>		
Advanced	1.1 (0.9-1.4)	0.4	> 2.5 × UNL	1.4 (0.7-2.9)	0.4
<i>Female to male</i>			<i>Bilirubin at SCT</i>		
Yes	2.2 (1.4-3.5)	0.001	> 1.5 × UNL	5.3 (2.9-9.8)	<0.001
<i>Multivariate analysis^b</i>					
<i>Female to male</i>			<i>GGT at SCT</i>		
Yes	2.1 (1.3-3.3)	0.003	> 2.5 × UNL	4.6 (2.6-8.1)	<0.001
<i>Donor</i>			<i>Bilirubin at SCT</i>		
Alternative	2.2 (1.4-3.6)	0.001	> 1.5 × UNL	4.5 (2.5-8.4)	<0.001

Abbreviations: ALT = alanine aminotransaminase; AP = alkaline phosphatase; AST = aspartate aminotransferase; Con. Reg = conditioning regimen; Flu = fludarabine; GGT = γ -glutamyl transpeptidase; GVHD prof. = GVHD prophylaxis; HR = hazard ratio; MDS = myelodysplastic syndrome; TCD = T-cell depletion; UNL = upper normal limit. *Data only available for 298 patients. ^bOnly variables with a P-value < 0.05 in the multivariate analysis (MVA) are shown. Albumin treated as a continuous variable did not have any impact on the development of jaundice. For alternative donors and advanced (or non-early) disease status definitions, see footnote in Table 1. Statistically significant entries are in bold.

Patients with and without hyperbilirubinemia after allo-SCT had similar risk of relapse (HR 1.3 (95% CI 0.8-1.9), P=0.3).

Risk factors for hyperbilirubinemia

Risk factors for the development of hyperbilirubinemia are summarized in Table 4. In the MVA, male patients with female donors, non-HLA-identical sibling donors and those with high GGT and bilirubin levels before allo-SCT had a higher risk of hyperbilirubinemia after transplantation.

Among the 92 patients with hyperbilirubinemia, 35 (38%) patients were considered to have baseline liver disease at transplant. Most frequent baseline liver diseases were isolated GGT/alkaline phosphatase elevations (n = 14, 15%), alcoholic fatty liver or hepatitis (n = 5, 5%) and nonalcoholic steatohepatitis (n = 5, 5%). Less frequent liver diseases included drug-induced liver toxicity (n = 4, 4%), compensated cirrhosis (n = 4, 4%) and isolated AST/ALT elevations (n = 3, 3%). Disease definitions and details on pretransplant liver disease have been recently published.¹³

DISCUSSION

Our study confirms that hyperbilirubinemia is a frequent and severe complication after allo-RIC with major impact on transplant outcomes. Both transplant and patient characteristics seem to play a role on the development of hyperbilirubinemia after transplantation and, thus, hyperbilirubinemia might simply be a surrogate marker for a combination of other high-risk features.

The cumulative incidence of hyperbilirubinemia in our study was 21%, similar to other studies conducted in the allo-RIC setting with the same diagnostic criteria.^{1,2} The incidence of hepatic dysfunction after allo-SCT varies greatly according to the study definition used. Hence, one large study²⁰ reported incidences of 1.4% when only extremely high levels of transaminases

(AST > 1500U/L) were considered for diagnosis, whereas others with less strict criteria found higher incidences^{21,22} (70-90%). We followed the criteria established by Hogan et al,¹ as it is one of the first, more reproduced and most consistent reports on hepatic dysfunction after allo-RIC. However, greater efforts are warranted to establish consensus and homogeneous diagnostic criteria to be used in clinical studies by all investigators. As the NCI (National Cancer Institute) common toxicity criteria are widely used and accepted by clinicians over the world,²³ we think that these could be an optimal starting point for expert discussion.

Cholestasis due to GVHD or sepsis was the most frequent cause of hyperbilirubinemia in our population. In clinical practice, a distinction between these two entities is usually difficult as they often coexist at the same time. In addition, the intensive immunosuppressive therapy used to treat GVHD might worsen underlying infections. We support diagnostic efforts to distinguish these two entities. Liver biopsy is a very valuable diagnostic tool, particularly in cases with overlapping clinical features, but it is an invasive procedure with significant complications.⁶ However, in our series, liver biopsy allowed a definitive histopathological diagnosis in 96% of the patients without any severe complication. Another study conducted in SCT recipients⁵ reported very similar results with 92% of diagnostic biopsies and only one severe adverse event with no biopsy-related mortality. However, a selection bias surely occurred in these studies, as only patients with mild or moderate estimated risk of biopsy-related complications had been considered for liver biopsy.

Less frequent causes of hyperbilirubinemia in our series included VOD and iron overload. Only six patients in the whole cohort (1.3%) met the criteria for VOD, which represented the main cause of hyperbilirubinemia in 4% of the patients. These results confirm the low incidence of VOD reported in allo-RIC recipients. The intensity of the conditioning regimen seems to play a key role in the development of VOD. Hence, in allo-RIC recipients, despite older age and greater comorbidities,^{24,25}

reported incidences of VOD range from 0 to 7%,^{1,26,27} whereas in the myeloablative setting the reported incidence is ~10–15%.^{28–30} On the other hand, iron overload was found in 55% of liver biopsies, although it was considered the main cause of hyperbilirubinemia in only 3 (14%) of the patients undergoing liver biopsy. Our findings and those of others⁵ suggest that liver iron overload is more common than traditionally considered by clinicians. However, the precise impact of iron overload on transplant outcomes and the best way to determine it are still an issue of debate in the allo-RIC setting.³¹

The development of hyperbilirubinemia had a profound impact on mortality and survival in our patients as described by others.³² Nevertheless, continuous improvements in transplant outcomes may not allow direct comparisons between ours and other studies conducted in different time points and patient populations. The impact of hyperbilirubinemia on the outcome persisted when the development of aGVHD was included in the statistical model. Hence, it seems that aGVHD might only be partially responsible for the impact of hyperbilirubinemia on the outcome of allo-RIC. Other patient-related (age, previous chemotherapy toxicity) and non-GVHD transplant-related characteristics (infections, VOD) might contribute to the worse outcome of patients developing hyperbilirubinemia, which would act as a surrogate marker for several of these conditions. Interestingly, OS and NRM were worse in patients with mild hyperbilirubinemia (22–68.3 μM) than in patients without bilirubin abnormalities (<22 μM). These findings would support an early and aggressive approach to diagnosis and treatment when mild bilirubin abnormalities appear after allo-SCT. However, the impact of mild bilirubin abnormalities after allo-RIC have to be further studied as others¹ did not confirm our findings.

Patients with liver test abnormalities before allo-RIC (high GGT and bilirubin levels) seemed more likely to develop hyperbilirubinemia after transplantation. Our group¹³ and others³³ have analyzed the impact of pretransplant liver function abnormalities in the allo-SCT setting, showing the deleterious effect of liver injury on several outcomes. Other risk factors for hyperbilirubinemia in our patients were female donors to male recipients and donors other than HLA-identical siblings. Both of these variables have been identified as risk factors for GVHD,³⁴ the main cause of hyperbilirubinemia in our patients. Furthermore, patients with GVHD have a high risk of infection and need for longer immunosuppressive therapy,³⁵ which were other causes of hyperbilirubinemia in our series.

Interestingly, the use of BU did not seem to have an impact on the development of hyperbilirubinemia or VOD after transplantation. BU is an alkylating agent with hepatotoxic effects and has been associated with a higher risk of VOD.³⁶ Its hepatic toxicity is known to be dose dependent and it appears to be more frequent and severe in patients with higher-dose exposure.³⁷ Furthermore, the hepatotoxic effects of BU seem to be higher in patients receiving TBI or CY. The physiopathological mechanism of BU toxicity is not completely understood. One plausible explanation is that BU increases the susceptibility of hepatocytes to other drugs by reducing the intracellular glutathione levels. Glutathione is the most abundant intracellular antioxidant and is required to conjugate chemicals. Hence, hepatocytes would be more susceptible to injury caused by other drugs following BU administration.³⁸ Indirect evidence supporting this hypothesis comes from the studies suggesting a lower risk of sinusoidal injury when BU is given last in order in the BU/CY regimen.³⁹

Several strategies have been developed in an attempt to reduce the impact of liver dysfunction on mortality after SCT, including the use of danaparoid, defibrotide and *N*-acetylcysteine. The results of these studies focused especially in VOD and showed great disparity of results.^{40–42} The most widely spread strategy to prevent cholestatic liver disease is the use of ursodeoxycholic acid during the early months of the transplant. A randomized

prospective clinical trial in adult patients receiving myeloablative conditioning found that SCT recipients treated with ursodeoxycholic acid during the early phase after transplantation had lower risk of liver injury, aGVHD and NRM than patients not receiving ursodeoxycholic acid.⁴³ However, another randomized study did not find any survival benefit of the combination of heparin and ursodeoxycholic acid compared with heparin alone.⁴⁴ More recently, a meta-analysis including 824 patients from 6 studies showed a lower risk of VOD and NRM in patients receiving ursodeoxycholic acid. The analysis did not show a survival benefit for the use of ursodiol. Moreover, the pooled results of the two randomized studies showed a nonsignificant trend to a lower OS in the ursodiol group.⁴⁵ Remarkably, all these studies were conducted in the myeloablative setting. To our knowledge, no studies have demonstrated a benefit in terms of survival and NRM of ursodeoxycholic acid in the allo-RIC setting. Despite the fact that our patients did not receive ursodeoxycholic acid, we consider that the results of the current study are applicable in the current practice in the RIC setting, at least until consistent evidence favoring the use of ursodeoxycholic acid in allo-RIC recipients appears.

In conclusion, we confirm that hyperbilirubinemia (bilirubin >68.4 μM) is common after allo-RIC and it is associated with worse outcome of the procedure. Improvement in the diagnostic, prophylactic and therapeutic measures could, thus, contribute to ameliorate transplantation outcomes in the allo-SCT setting.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

JL 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).

REFERENCES

- Hogan WJ, Maris M, Storer B, Sandmaier BM, Maloney DG, Schoch HG et al. Hepatic injury after nonmyeloablative conditioning followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation: a study of 193 patients. *Blood* 2004; **103**: 78–84.
- Kusumi E, Kami M, Kanda Y, Murashige N, Seki K, Fujiwara M et al. Hepatic injury following reduced intensity unrelated cord blood transplantation for adult patients with hematological diseases. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; **12**: 1302–1309.
- Ozdoğan O, Ratip S, Ahdab YA, Dane F, Ahdab HA, İmeryüz N et al. Causes and risk factors for liver injury following bone marrow transplantation. *J Clin Gastroenterol* 2003; **36**: 421–426.
- Kami M, Mori S, Tanikawa S, Akiyama H, Onozawa Y, Tanaka T et al. Risk factors for hepatic veno-occlusive disease after bone marrow transplantation: retrospective analysis of 137 cases at a single institution. *Bone Marrow Transplant* 1997; **20**: 397–402.
- Sucak GT, Yegin ZA, Ozkurt ZN, Aki SZ, Karakan T, Akyol G. The role of liver biopsy in the workup of liver dysfunction late after SCT: is the role of iron overload underestimated? *Bone Marrow Transplant* 2008; **42**: 461–467.
- Duarte RF, Delgado J, Shaw BE, Wrench DJ, Ethell M, Patch D et al. Histologic features of the liver biopsy predict the clinical outcome for patients with graft-versus-host disease of the liver. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; **11**: 805–813.
- Barba P, Piñana JL, Valcárcel D, Querol L, Martino R, Sureda A et al. Early and late neurological complications after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; **15**: 1439–1446.
- Piñana JL, Valcárcel D, Martino R, Barba P, Moreno E, Sureda A 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**: 21–29.
- Peres E, Levine JE, Khaled YA, Ibrahim RB, Braun TM, Krijanovski OI et al. Cardiac complications in patients undergoing a reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010; **45**: 149–152.

- 10 Martino R, Iacobelli S, Brand R, Jansen T, van Biezen A, Finke J 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**: 836-846.
- 11 Valcárcel D, Martino R, Caballero D, Martín J, Ferrá 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.
- 12 Martino R, Pérez-Simón JA, Moreno E, Queraltó 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.
- 13 Barba P, Piñana JL, Fernández-Avilés F, Pérez-Simón JA, Martino R, López-Guerrero E et al. Pretransplant liver function impacts on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a study of 455 patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; **17**: 1653-1661.
- 14 Piñana JL, Martino R, Barba P, Margall N, Roig MC, Valcárcel D et al. Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: single-centre experience. *Bone Marrow Transplant* 2009; **45**: 534-542.
- 15 Martino R, Piñana JL, Parody R, Valcárcel D, Sureda A, Brunet S 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.
- 16 McDonald GB, Sharma P, Matthews DE, Shulman HM, Thomas ED. Venocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. *Hepatology* 198; **4**: 116-122.
- 17 Klein JP, Rizzo JD, Zhang MJ, Keiding N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 1: unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant* 2001; **28**: 909-915.
- 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 Kaplan EL, Meier P. Non parametric estimation from incomplete observations. *J Am Statistical Assoc* 1958; **53**: 457-481.
- 20 Sakai M, Strasser SI, Shulman HM, McDonald SJ, Schoch HG, McDonald GB. Severe hepatocellular injury after hematopoietic cell transplant: incidence, etiology and outcome. *Bone Marrow Transplant* 2009; **44**: 441-447.
- 21 Subbarao G, Haut PR, Johnson CS, Gowan D, Mollleston JP. Incidence, etiology, and risk factors for liver dysfunction in children following hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* 2006; **10**: 682-689.
- 22 Ho GT, Parker A, MacKenzie JF, Morris AJ, Stanley AJ. Abnormal liver function tests following bone marrow transplantation: aetiology and role of liver biopsy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; **16**: 157-162.
- 23 National Cancer Institute. *Common Toxicity Criteria for Adverse Events*. Version 3.0. National Cancer Institute: Bethesda, MD, 2003.
- 24 Guilfoyle R, Demers A, Bredeson C, Richardson E, Rubinger M, Szwajcer D 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.
- 25 Xhaard A, Porcher R, Chien JW, de Latour RP, Robin M, Ribaud P et al. Impact of comorbidity indexes on non-relapse mortality. *Leukemia* 2008; **22**: 2062-2069.
- 26 Ramasamy K, Lim ZY, Pagliuca A, Grundy R, Devereux S, Ho AY et al. Incidence and management of hepatic venoocclusive disease in 237 patients undergoing reduced-intensity conditioning (RIC) haematopoietic stem cell transplantation (HSCT). *Bone Marrow Transplant* 2006; **38**: 823-824.
- 27 Russell JA, Tran HT, Quinlan D, Chaudhry A, Duggan P, Brown C et al. Once-daily intravenous busulfan given with fludarabine as conditioning for allogeneic stem cell transplantation: study of pharmacokinetics and early clinical outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; **8**: 468-476.
- 28 Carreras E, Bertz H, Arcese W, Vernant JP, Tomas JF, Hagglund H et al. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. *Blood* 1998; **92**: 3599-3604.
- 29 Cutler C, Stevenson K, Kim HT, Richardson P, Ho VT, Linden E et al. Sirolimus is associated with veno-occlusive disease of the liver after myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2008; **112**: 4425-4431.
- 30 Coppell JA, Richardson PG, Soiffer R, Martin PL, Kernan NA, Chen A et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; **16**: 157-168.
- 31 Lim ZY, Fiaccadori V, Gandhi S, Hayden J, Keryon M, Ireland R et al. Impact of pre-transplant serum ferritin on outcomes of patients with myelodysplastic syndromes or secondary acute myeloid leukaemia receiving reduced intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Res* 2010; **34**: 723-727.
- 32 Gooley TA, Rajvanshi P, Schoch HG, McDonald GB. Serum bilirubin levels and mortality after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Hepatology* 2005; **41**: 345-352.
- 33 Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005; **106**: 2912-2919.
- 34 Flowers ME, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Petersdorf EW, Pereira SE et al. Comparative analysis of risk factors for acute and for chronic graft-versus-host-disease according to National Institute of Health consensus criteria. *Blood* 2011; **117**: 3214-3219.
- 35 Parody R, Martino R, Rovira M, Vazquez L, Vázquez MJ, de la Cámara R et al. Severe infections after unrelated donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults: comparison of cord blood transplantation with peripheral blood and bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; **12**: 734-748.
- 36 Qureshi A, Marshall L, Lancaster D. Defibrotide in the prevention and treatment of veno-occlusive disease in autologous and allogeneic stem cell transplantation in children. *Pediatr Blood Cancer* 2008; **50**: 831-832.
- 37 Gaziev J, Nguyen L, Puozzo C, Mozzi AF, Casella M, Perrone Donnorso M et al. Novel pharmacokinetic behavior of intravenous busulfan in children with thalassemia undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a prospective evaluation of pharmacokinetic and pharmacodynamic profile with therapeutic drug monitoring. *Blood* 2010; **115**: 4597-4604.
- 38 Hassan Z, Hellström-Lindberg E, Alsadi S, Edgren M, Hägglund H, Hassan M. The effect of modulation of glutathione cellular content on busulfan-induced cytotoxicity on hematopoietic cells in vitro and in vivo. *Bone Marrow Transplant* 2002; **30**: 141-147.
- 39 Cantoni N, Gerull S, Heim D, Halter J, Bucher C, Buser A et al. Order of application and liver toxicity in patients given BU and CY containing conditioning regimens for allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011; **46**: 344-349.
- 40 Barkholt L, Remberger M, Hassan Z, Fransson K, Omazic B, Svahn BM et al. A prospective randomized study using N-acetyl-L-cysteine for early liver toxicity after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; **41**: 785-790.
- 41 Sakaguchi H, Watanabe N, Muramatsu H, Doisaki S, Yoshida N, Matsumoto K et al. Danaparoid as the prophylaxis for hepatic veno-occlusive disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in childhood hematological malignancy. *Pediatr Blood Cancer* 2010; **55**: 1118-1125.
- 42 Chalandon Y, Roosnek E, Mermillod B, Newton A, Ozsahin H, Wacker P et al. Prevention of veno-occlusive disease with defibrotide after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; **10**: 347-354.
- 43 Ruutu T, Eriksson B, Remes K, Juvonen E, Volin L, Remberger M et al. Ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic complications in allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2002; **100**: 1977-1983.
- 44 Park SH, Lee MH, Lee H, Kim HS, Kim K, Kim WS et al. A randomized trial of heparin plus ursodiol vs heparin alone to prevent hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; **29**: 137-143.
- 45 Tay J, Tinmouth A, Fergusson D, Huebsch L, Allan DS. Systematic review of controlled clinical trials on the use of ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic veno-occlusive disease in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; **13**: 206-217.

6. DISCUSION

La introducción de los trasplantes con acondicionamiento de toxicidad reducida ha permitido aumentar el número de pacientes candidatos a un alo-TPH, especialmente aquellos de edad avanzada o con otras enfermedades, que no eran considerados candidatos a recibir un alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo, por su elevado riesgo de mortalidad y morbilidad relacionada con el procedimiento. Estos pacientes presentan un número y una severidad elevada de comorbilidades (Xhaard et al. 2008) y complicaciones orgánicas post-trasplante. Entre estas, las alteraciones hepáticas representan unas de las más prevalentes y graves (Sorrer et al. 2005). Por ello, su estudio detallado y su relación con otras comorbilidades resultan de máxima importancia en esta población de pacientes.

En el primer trabajo, se estudian 3 modelos predictivos de mortalidad post-trasplante que incluyen comorbilidades, en una población de pacientes receptores de un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida. Esta particularidad es importante, ya que algunos de estos modelos, como el HCT-CI, han demostrado ampliamente su impacto en los receptores de un alo-TPH convencional pero no en otras situaciones, como el trasplante de sangre de cordón umbilical (Pollack et al. 2009). La confirmación definitiva de alguno de estos modelos en un ámbito concreto, como los alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida, por ejemplo, debería conllevar su incorporación en la toma de decisiones sobre la indicación de trasplante o tipo de acondicionamiento en un paciente concreto.

El primero de los hallazgos de este estudio fue la alta prevalencia de comorbilidades en los receptores de un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida. Tal y como

habían apuntado otros investigadores (Farina et al. 2009; Majhail et al. 2008), las comorbilidades con mayor presencia en estos pacientes fueron la pulmonar y la hepática. Sin embargo, la frecuencia de estas comorbilidades depende en gran medida de los criterios utilizados para definirlos. Por ejemplo, 21 pacientes (11%) de la serie cumplían criterios de enfermedad hepática moderada-severa de acuerdo con el HCT-CI pero ninguno de ellos podía clasificarse de esa forma según los criterios más restrictivos del índice de Charlson.

El segundo de los hallazgos fue la demostración de que el modelo de Charlson tiene una capacidad limitada para identificar las comorbilidades menos severas, ya que más de la mitad de los pacientes se incluían en la categoría de bajo riesgo de este modelo, mientras que según los modelos PAM y HCT-CI, menos de un 10% de los pacientes presentaban un bajo riesgo de complicaciones. Esto podría explicar la limitada capacidad predictiva de este modelo en los receptores de un alo-TPH de toxicidad reducida, ya que la categoría de bajo riesgo incluiría “verdaderos” pacientes de bajo riesgo con otros con comorbilidades “leves” que podrían jugar un papel importante en una situación de alta exigencia como el alo-TPH.

En tercer lugar, no se demostró un valor predictivo significativo para el modelo PAM. Al menos, dos estudios más han analizado este modelo en receptores de un alo-TPH. El primero de ellos (Xhaard et al. 2008), tampoco demostró ninguna capacidad predictiva de este modelo, mientras que el segundo (Chien et al. 2009), demostró cierta capacidad predictiva en los receptores de un alo-TPH con acondicionamiento mieloablativo aunque no en los de toxicidad reducida. A la vista de estos resultados, consideramos que en el momento actual el papel del modelo de PAM para la selección de pacientes candidatos a alo-TPH, es limitado, al menos en los alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.

La modificación del HCT-CI en nuestro estudio, utilizando diferentes puntos de corte para la estratificación del riesgo, puede suscitar cierta controversia. El modelo flexible generado en nuestro trabajo demostró una mayor capacidad predictiva que el HCT-CI clásico y los modelos PAM y de Charlson. La justificación para la flexibilización del HCT-CI tiene una doble vertiente: estadística y conceptual. En primer lugar, solo 13 pacientes cumplían los criterios de bajo riesgo (HCT-CI =0) según el modelo clásico, lo que hacía prácticamente imposible utilizar este grupo para el análisis. Por otro lado, el 76% de los pacientes se incluían en la categoría de alto riesgo (HCT-CI ≥ 3), con pacientes con una puntuación entre 3 y 13. Conceptualmente, parece claro que un paciente con un HCT-CI de 11 no se comportará de la misma forma que uno con 3 puntos, lo que justificaría la flexibilización del modelo en los receptores de un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.

A pesar de los esfuerzos realizados en este campo, sigue existiendo margen de evolución para mejorar este y otros modelos predictivos en el campo del alo-TPH y en concreto en los trasplante con acondicionamiento de toxicidad reducida. Una posible estrategia para mejorar la capacidad predictiva en un paciente concreto es la combinación de modelos que analicen el riesgo de complicaciones desde perspectivas diferentes. Por ello, nuestro grupo ha evaluado recientemente (Barba et al. 2014) la utilidad de combinar un modelo basado en comorbilidades, como el HCT-CI, con otro basado en factores más propios del trasplante y de la enfermedad de base como el modelo del EBMT. Los resultados de este estudio demuestran que la combinación de modelos podría tener su utilidad en los pacientes con comorbilidades severas y permitiría identificar una población de pacientes (HCT-CI alto y EBMT score alto) que tendrían una alta probabilidad (40-50%) de presentar MRT.

Es evidente, que a pesar de la utilidad de los modelos teóricos como el HCT-CI, las comorbilidades no tienen un efecto simplemente aditivo para determinar el pronóstico de un paciente, y se comportan de manera integrada con otras variables relacionadas con la enfermedad, el trasplante, psicológicas y socioeconómicas. Además, el valor de cada una de las toxicidades orgánicas pre-trasplante tiene que analizarse con mayor detalle para optimizar los criterios diagnósticos y determinar su papel exacto en el desarrollo de complicaciones del alo-TPH, antes de su inclusión definitiva en los modelos predictivos. Por ello, el segundo de los trabajos se centró de forma detallada en el papel de la función hepática en una numerosa población de receptores de un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.

Globalmente, 94 (21%) de los pacientes en este segundo trabajo presentaba al menos una alteración de las pruebas hepáticas en el momento del trasplante, especialmente elevaciones de GGT y fosfatasa alcalina. Solo 5 pacientes (1%) presentaban alteraciones del INR, probablemente porque las alteraciones de la coagulación aparecen en una fase tardía de la insuficiencia hepática y, con frecuencia, estos pacientes no se consideran candidatos a recibir un alo-TPH. De acuerdo con los criterios del HCT-CI, 43 pacientes (9%) se incluyeron en la categoría de *enfermedad hepática severa*, una prevalencia similar a la del primer trabajo y a otros estudios con características similares, que oscilan entre el 4% y el 16% (Xhaard et al.2008; Pollack et al. 2009)

Los resultados demostraron el escaso impacto de niveles altos de AST, ALT y fosfatasa alcalina en los resultados del trasplante. Por otro lado, los niveles altos de bilirrubina y GGT sí tuvieron un efecto negativo sobre los resultados del procedimiento. Estos resultados, merecen una discusión más detallada.

En primer lugar, los niveles de transaminasas antes del trasplante no permitieron predecir la MRT ni la supervivencia global después del procedimiento. AST y ALT son

marcadores sensibles de lesión celular hepática. Estas enzimas se utilizan de manera rutinaria en la práctica médica para la evaluación de la función hepática. Sin embargo, pocos estudios han analizado el efecto de los niveles de transaminasas previos al alo-TPH sobre los resultados del procedimiento. En contraposición con nuestros resultados, otros grupos sí identificaron que los niveles de transaminasas se asociaban a peor supervivencia en el alo-TPH (Parimon et al. 2006; Goldberg et al. 1998). Teniendo en cuenta estos resultados contradictorios, serán necesarios nuevos estudios para determinar el papel exacto de las elevaciones de transaminasas como predictivos de mortalidad y otros eventos en el contexto del alo-TPH.

En segundo lugar, los niveles elevados de bilirrubina se asociaron de manera importante con una mayor mortalidad de los pacientes. Esta asociación también ha sido demostrada en otros ámbitos como en los trasplantes de órganos sólidos (Gries et al. 2010) y en el caso del cáncer colorectal (Parodi et al. 2008). Por ello, el uso de los niveles plasmáticos de bilirrubina en el proceso de evaluación de posibles candidatos a alo-TPH parece recomendable.

En tercer lugar, los niveles de GGT se asociaron con unos peores resultados del procedimiento. La GGT es un marcador de la obstrucción del flujo biliar que se encuentra en los hepatocitos y en las células epiteliales biliares. En la práctica clínica, la GGT se suele considerar como un marcador hipersensible de patología hepática y algunos autores consideran que tiene una utilidad limitada por su falta de especificidad (Pratt et al. 2000). Sin embargo, estudios epidemiológicos han demostrado que los niveles séricos de GGT permiten predecir la aparición de varias enfermedades así como la mortalidad por varias causas en poblaciones independientes de pacientes (Strasak et al 2008; Lee et al. 2004; Ruhl et al. 2009). Los mecanismos biológicos detrás de estos hallazgos no están claros. Algunos han sugerido que los niveles séricos de GGT pueden

actuar como un marcador precoz de estrés oxidativo ya que la GGT intracelular está relacionada con el metabolismo del glutatión, el oxidante intracelular más abundante (Lee et al. 2004). Otra posible explicación sería que la GGT sérica actuaría como un indicador biológico de algunos tóxicos ambientales, ya que el glutatión es clave para la conjugación de ciertas moléculas tóxicas (Lee et al. 2009). Nuestro estudio fue, según tenemos constancia, el primero en demostrar que los niveles altos de GGT son un factor de riesgo independiente para desarrollar complicaciones post-trasplante y se podrían asociar a una menor supervivencia en los pacientes sometidos a un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida.

Varios modelos predictivos pre-trasplante, como se ha apuntado en el primer trabajo, incluyen las alteraciones de la función hepática, aunque su definición es altamente variable. Siguiendo los criterios del HCT-CI, los pacientes con alteración hepática severa presentaron una mayor MRT pero con una supervivencia global similar a los que no presentaban la alteración. Teniendo en cuenta que estos resultados son similares a los pacientes que presentaban únicamente alteración de los niveles de bilirrubina, no se puede descartar que el efecto de la alteración hepática según el HCT-CI, esté limitada a los niveles de bilirrubina mientras que las transaminasas jugarían un papel menor. Sin embargo y dado que otros estudios han mostrado el impacto de las transaminasas en los resultados del procedimiento, los criterios óptimos para definir la alteración hepática en el alo-TPH están aún por determinar, aunque nuestros resultados sugieren un papel predominante de los niveles de bilirrubina y GGT.

Una de las mayores limitaciones de este trabajo fue que no se incluyeron todas las categorías del HCT-CI en el estudio multivariado, por falta de algunos datos. Por ello, no podemos excluir que los pacientes con alteraciones hepáticas tuvieran, además, otras comorbilidades que pudieran justificar los peores resultados del alo-TPH en estos

pacientes. Sin embargo, los resultados de los estudios de diseño del HCT-CI (Sorrer et al. 2005) y del modelo de PAM (Parimon et al. 2006) discutidos anteriormente y donde se demostraba que el impacto de las alteraciones hepáticas era independiente de las otras comorbilidades, confirmarían indirectamente los resultados de nuestro trabajo. Otras limitaciones de este trabajo son las propias de los estudios retrospectivos.

En el tercer trabajo, se trataron las alteraciones hepáticas que ocurren durante el procedimiento. En este estudio, se observó que las alteraciones hepáticas, en especial la elevación de la bilirrubina, ocurren frecuentemente en la evolución del alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida y tienen un impacto claro en sus resultados. Variables relacionadas con el paciente y con el propio procedimiento parecen tener importancia en el desarrollo de hiperbilirrubinemia en estos pacientes.

La incidencia acumulada de hiperbilirrubinemia fue del 21%, similar a la de otros estudios de características similares y con los mismos criterios diagnósticos (Hogan et al. 2004; Kusumi et al. 2006). En la literatura, la incidencia de alteraciones hepáticas en el alo-TPH varía mucho en función de la definición utilizada en cada uno de los estudios. Por ejemplo, un reciente estudio con más de 1000 pacientes (Sakai et al. 2009), encontró una incidencia del 1.4% de alteraciones hepáticas, cuando se consideraron únicamente las elevaciones extremas de transaminasas (AST > 1500U/L), mientras que otros con criterios más laxos encontraron incidencias mucho más altas (70-90%) (Subbarao et al. 2006; Ho et al. 2004). En este estudio, seguimos los criterios establecidos por Hogan y colaboradores (Hogan et al. 2004) ya que fue uno de los primeros y más citados estudios publicados sobre el tema, y sus criterios han sido reproducidos en varias publicaciones. Sin embargo, se debería continuar con la estandarización y homogeneización de criterios diagnósticos de referencia que pudieran ser utilizados en estudios clínicos. Por

su uso y aceptación, los criterios de toxicidad del *National Cancer Institute*, podrían ser un buen punto de partida para alcanzar el consenso.

La colestasis relacionada con la EICR o la sepsis fue la causa más frecuente de hiperbilirrubinemia en la población de estudio. En la práctica clínica, la distinción entre estas dos entidades no resulta sencilla, ya que a menudo coexisten en un mismo paciente. Sin embargo, el diagnóstico diferencial resulta imprescindible ya que la inmunosupresión requerida para la EICR puede empeorar las infecciones subyacentes. Otras causas menos frecuentes de hiperbilirrubinemia fueron el SOSH y la sobrecarga férrica. Únicamente 6 pacientes (1.3%) cumplían criterios de SOSH, que representó el 4% de las hiperbilirrubinemias en estos pacientes. Estos resultados confirman la baja incidencia de SOSH en el alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida. Por otro lado, la sobrecarga férrica se consideró la principal causa de hiperbilirrubinemia en solo 3 pacientes, a pesar de que se encontró presencia de hierro en más de la mitad de las biopsias practicadas.

El desarrollo de hiperbilirrubinemia tuvo un profundo impacto en la mortalidad de los pacientes. Este impacto independiente persistió cuando se incluyó el desarrollo de EICR aguda en el modelo multivariado, lo que parece explicar que la EICR tuvo una responsabilidad solo parcial en el impacto de la hiperbilirrubinemia en los resultados del trasplante. Sin embargo, otras variables dependientes del paciente (edad, quimioterapias previas recibidas) y del propio trasplante (infecciones, SOSH) pueden contribuir a los peores resultados del alo-TPH en estos pacientes, de forma que la bilirrubina funcionaría como un *surrogate marker* para alguna de estas características. Además, el estudio confirmó los peores resultados del alo-TPH en los pacientes que tenían alteraciones leves de la bilirrubina (22-68.3 μ M) respecto a los pacientes con bilirrubina normal durante toda la evolución. Estos hallazgos, sugieren la importancia de

realizar esfuerzos diagnósticos y terapéuticos precoces ante las elevaciones iniciales de bilirrubina después del trasplante. Sin embargo, otro grupo no confirmó estos hallazgos (Hogan et al. 2004) por lo que se requieren más estudios para determinar la importancia de estas alteraciones leves en el desarrollo de complicaciones post-trasplante.

Los pacientes con alteraciones de GGT y bilirrubina previas al trasplante, así como los pacientes que recibieron un alo-TPH de donantes distintos a familiares HLA idénticos y los varones con donantes femeninos, presentaron un mayor riesgo de desarrollar alteraciones posteriores de la función hepática. Estos factores, pueden tener su utilidad para definir los pacientes con alto riesgo de desarrollar hiperbilirrubinemia y que se podrían beneficiar de estrategias de *protección* hepática. Algunas de estas estrategias, se han comentado en la introducción e incluyen el uso de N-acetilcisteína (Barkholt et al. 2008), heparina (Park et al. 2002) danaparoid (Sakaguchi et al. 2010) y sobre todo el ácido ursodeoxicólico, con beneficios demostrados en términos de MRT en estudios randomizados en receptores de un alo-TPH mieloablativo (Rutuu et al. 2002; Tay et al. 2007). Sin embargo, ninguno de los estudios randomizados ha demostrado un beneficio en trasplantes con acondicionamientos de toxicidad reducida. Por ello, y en base a la baja incidencia de SOSH demostrada en nuestro estudio, el beneficio del ácido ursodeoxicólico en el contexto de los acondicionamientos de toxicidad reducida, tiene que demostrarse; si bien, por su escasa toxicidad, sigue siendo utilizado en muchos centros.

El uso de busulfan en el acondicionamiento no se asoció a un mayor desarrollo de hiperbilirrubinemia o de SOSH en esta serie de pacientes. Busulfan es un agente alquilante con efectos hepatotóxicos que se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar SOSH (Qureshi et al. 2008). Su mecanismo tóxico parece ser dosis-dependiente y es más elevado en los pacientes que reciben el fármaco en combinación

con irradiación corporal total o ciclofosfamida (Gaziev et al. 2010). El mecanismo fisiopatológico de su toxicidad no está totalmente esclarecido. Algunos apuntan a que la exposición a busulfan incrementa la susceptibilidad de los hepatocitos a otros tratamientos reduciendo los niveles de glutatión, un potente *detoxificador* del hepatocito. De esta forma, los hepatocitos serían más susceptibles al daño producido por los tratamientos administrados después del busulfan (Hassan et al. 2002). En este sentido, los estudios que demuestran un menor riesgo de daño sinusoidal si el busulfan se administra después y no antes de la ciclofosfamida en el acondicionamiento, aportarían evidencia indirecta que apoyaría esta hipótesis (Cantoni et al. 2011).

7. CONCLUSIONES

Trabajo número 1

En los pacientes candidatos a un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida, las alteraciones hepáticas, junto con las pulmonares, son las más frecuentes. El modelo flexible del HCT-CI es útil para predecir MRT y supervivencia global en una parte importante de los pacientes, mientras que los modelos de Charlson, PAM y la distribución clásica del HCT-CI tienen una capacidad predictiva limitada en estos pacientes.

Trabajo número 2

La alteración hepática previa al alo-TPH tiene un impacto directo e independiente en sus resultados. A pesar de que el mejor indicador de alteración hepática en el alo-TPH sigue todavía pendiente de definir y teniendo en cuenta los resultados del trabajo, las determinaciones de bilirrubina y GGT deberían incorporarse a esta definición.

Trabajo número 3

El desarrollo de hiperbilirrubinemia franca ($>68.4 \mu\text{M}$) es frecuente y se asocia a un peor pronóstico en los receptores de un alo-TPH con acondicionamiento de toxicidad reducida. Las mejoras en la profilaxis, el diagnóstico y el tratamiento de estas alteraciones pueden representar una mejoría en términos de supervivencia en estos pacientes.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Abouelnasr A, Roy J, Cohen S, Kiss T, Lachance S. Defining the Role of Sirolimus in the Management of Graft-versus-Host Disease: From Prophylaxis to Treatment. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19:12-21.
2. Altes A, Remacha AF, Sureda A, et al. Iron overload might increase transplant-related mortality in haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29:987-9.
3. Altes A, Remacha AF, Sarda P, et al. Frequent severe liver iron overload after stem cell transplantation and its possible association with invasive aspergillosis. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34:505-9.
4. Amer J, Weiss L, Reich S, Shapira MY, Slavin S, Fibach E. The oxidative status of blood cells in a murine model of graft-versus-host disease. *Ann Hematol.* 2007;86:753-8.
5. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med.* 2012;367:1487-96.
6. Armand P, Kim HT, Cutler CS et al. Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Blood.* 2007;109:4586-8.
7. Armand P, Kim HT, Rhodes J et al. Iron overload in patients with acute leukemia or MDS undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17:852-60.
8. Attal M, Hugué F, Rubie H et al. Prevention of hepatic veno-occlusive disease after bone marrow transplantation by continuous infusion of low-dose heparin: a prospective, randomized trial. *Blood.* 1992;79:2834-40.
9. Bacigalupo A, Tedone E, Sanna MA et al. CMV infections following allogeneic BMT: risk factors, early treatment and correlation with transplant related mortality. *Haematologica.* 1992;77:507-13.
10. Bacigalupo A. Third EBMT/AMGEN Workshop on reduced-intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplants (RIC-HSCT), and panel consensus. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33:691-696.
11. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;12:1628-3.
12. Barba P, Valcárcel D, Pérez-Simón JA et al. Impact of hyperferritinemia on the outcome of reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic cell transplantation for lymphoid malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19:597-601.
13. Barba P, Martino R, Pérez-Simón JA et al. Combination of the Hematopoietic Cell

- Transplantation Comorbidity Index and the European Group for Blood and Marrow Transplantation score allows a better stratification of high-risk patients undergoing reduced-toxicity allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:66-72.
14. Barkholt L, Remberger M, Hassan Z et al. A prospective randomized study using N-acetyl-L-cysteine for early liver toxicity after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41:785-90.
 15. Barnes DW, Loutit JF. Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. *Br J Haematol.* 1957;3:241-52.
 16. Batsis I, Yannaki E, Kaloyannidis P et al. Veno-occlusive disease prophylaxis with fresh frozen plasma and heparin in bone marrow transplantation. *Thromb Res.* 2006;118:611-8.
 17. Bearman SI, Shen DD, Hinds MS, Hill HA, McDonald GB. A phase I/II study of prostaglandin E1 for the prevention of hepatic venoocclusive disease after bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1993; 84: 724–730.
 18. Bejanyan N, Bolwell BJ, Lazaryan A et al. Risk factors for 30-day hospital readmission following myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT). *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18:874-80.
 19. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001;344:175-81.
 20. Bieri S, Roosnek E, Helg C et al. Quality of life and social integration after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2008;42:819-27.
 21. Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* 1966-1967;62:21-78.
 22. Blaise D, Kuentz M, Fortanier C et al. Randomized trial of bone marrow versus lenograstim-primed blood cell allogeneic transplantation in patients with early stage leukemia: a report from the Société Française de Greffe de Moelle. *J Clin Oncol* 2000;18:537-46.
 23. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med.* 1995;333:1171-5.
 24. Brown SA, Goringe A, Fegan C et al. Parenteral glutamine protects hepatic function during bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1998;22:281-4.
 25. Brunstein CG, Weisdorf DJ, DeFor T et al. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative

- conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood*. 2006;108:2874-80.
26. Burnett AK, Russell NH, Hills RK et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy improves survival in older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2012;30:3924-3.
 27. Burnier L, Saller F, Kadi L et al. Gas6 deficiency in recipient mice of allogeneic transplantation alleviates hepatic graft-versus-host disease. *Blood*. 2010;115:3390-7.
 28. Cantoni N, Gerull S, Heim D et al. Order of application and liver toxicity in patients given BU and CY containing conditioning regimens for allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46:344-9.
 29. Carreras E, Grañena A, Navasa M et al. Transjugular liver biopsy in BMT. *Bone Marrow Transplant*. 1993;11:21-6.
 30. Carreras E. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: the liver as a risk factor. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2007;20:231-46.
 31. Chalandon Y, Roosnek E, Mermillod B et al. Prevention of veno-occlusive disease with defibrotide after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10:347-54.
 32. 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.
 33. Charuhas PM, Fosberg KL, Bruemmer B et al. A double-blind randomized trial comparing outpatient parenteral nutrition with intravenous hydration: effect on resumption of oral intake after marrow transplantation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1997;21:157-61.
 34. Chien JW, Zhao LP, Storer B et al. Improving hematopoietic cell transplant outcomes in a new era of genomic research. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:42-5.
 35. Clark JG, Crawford SW, Madtes DK, Sullivan KM. Obstructive lung disease after allogeneic marrow transplantation. Clinical presentation and course. *Ann Intern Med*. 1989;111:368-76.
 36. Claviez A, Canals C, Dierickx D et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with recurrent and refractory Hodgkin lymphoma: an analysis of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*. 2009;114:2060-7.
 37. Coppel JA, Richardson PG, Soiffer R et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16:157-68.

38. Corbacioglu S, Hönig M, Lahr G et al. Stem cell transplantation in children with infantile osteopetrosis is associated with a high incidence of VOD, which could be prevented with defibrotide. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38:547-53.
39. Corbacioglu S, Cesaro S, Faraci M et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet.* 2012;379:1301-9.
40. Davies D. M, Ferner R. E i de Glanville H. *Davies's textbook of Adverse Drug Reactions.* Chapman & Hall Medical, Londres (Gran Bretaña);1998.
41. DeLeve LD, McCuskey RS, Wang X et al. Characterization of a reproducible rat model of hepatic veno-occlusive disease. *Hepatology.* 1999;29:1779-91.
42. DeLeve LD. Hepatic microvasculature in liver injury. *Semin Liver Dis.* 2007;27:390-400.
43. den Haan JM, Sherman NE, Blokland E et al. Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science.* 1995;268:1476-80.
44. Diaconescu R, Flowers CR, Storer B, et al. Morbidity and mortality with nonmyeloablative compared to myeloablative conditioning before hematopoietic cell transplantation from HLA matched related donors. *Blood.* 2004;104:1550-1558.
45. Dignan F, Gujral D, Ethell M et al. Prophylactic defibrotide in allogeneic stem cell transplantation: minimal morbidity and zero mortality from veno-occlusive disease. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40:79-82.
46. Doubrovina E, Carpenter T, Pankov D et al. Mapping of novel peptides of WT-1 and presenting HLA alleles that induce epitope-specific HLA-restricted T cells with cytotoxic activity against WT-1(+) leukemias. *Blood.* 2012;120:1633-46.
47. Drugdex R System (Internet database) Greenwood Village Colo: Thomson Reuters (Healthcare) Inc. *Actualizado periódicamente.*
48. Duarte RF, Delgado J, Shaw BE et al. Histologic features of the liver biopsy predict the clinical outcome for patients with graft-versus-host disease of the liver. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005;11:805-13.
49. 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;11:653-6.
50. Ellison CA, Bradley DS, Fischer JM, Hayglass KT, Gartner JG. 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;105:63-72.
51. Fallon EM, Le HD, Puder M. Prevention of parenteral nutrition-associated liver disease: role of omega-3 fish oil. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010;15:334-4.

52. 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;23:1131-8.
53. Fefer A, Sullivan KM, Weiden P et al. Graft versus leukemia effect in man: the relapse rate of acute leukemia is lower after allogeneic than after syngeneic marrow transplantation. *Prog Clin Biol Res*. 1987;244:401-8.
54. Ferrara JL, Cooke KR, Pan L, Krenger W. The immunopathophysiology of acute graft-versus-host-disease. *Stem Cells*. 1996;14:473-89.
55. Ferrara JL, Deeg HJ, Cooke KR (ed.). *Graft versus Host Disease*. 3a edición. Taylor and Francis. New York (EEUU); 2005.
56. 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;11:945-56.
57. Forrest DL, Thompson K, Dorcas VG, Couban SH, Pierce R. Low molecular weight heparin for the prevention of hepatic veno-occlusive disease (VOD) after hematopoietic stem cell transplantation: a prospective phase II study. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31:1143-9.
58. Fox CP, Burns D, Parker AN et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder following in vivo T-cell-depleted allogeneic transplantation: clinical features, viral load correlates and prognostic factors in the rituximab era. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49:280-6.
59. Fox ES, Thomas P, Broitman SA. Clearance of gut-derived endotoxins by the liver. Release and modification of ³H, ¹⁴C-lipopolysaccharide by isolated rat Kupffer cells. *Gastroenterology*. 1989;96:456-61.
60. Frassonni F, Labopin M, Powles R et al. Effect of centre on outcome of bone marrow transplantation for acute myeloid leukaemia. Acute Leukaemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet* 2000; 355:1393-1398.
61. Frere P, Canivet JL, Gennigens C, Rebeix JP, Fillet G, Beguin Y. Hyperammonemia after high-dose chemotherapy and stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2000;26:343-5.
62. Fried RH, Murakami CS, Fisher LD, Willson RA, Sullivan KM, McDonald GB. Ursodeoxycholic acid treatment of refractory chronic graft-versus-host disease of the liver. *Ann Intern Med*. 1992;116:624-9.
63. Friedrichs B, Tichelli A, Bacigalupo A et al. Long-term outcome and late effects in patients transplanted with mobilised blood or bone marrow: a randomised trial. *Lancet Oncol*.

- 2010;11:331-8.
64. Fujii Y, Kaku K, Tanaka M, Kaneko T, Matumoto N, Shinohara K. Hepatitis C virus infection and liver disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1994;13:523-6.
 65. Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R, Good RA. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet.* 1968;2:1366-9.
 66. Gaziev J, Nguyen L, Puzo C et al. Novel pharmacokinetic behavior of intravenous busulfan in children with thalassemia undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a prospective evaluation of pharmacokinetic and pharmacodynamic profile with therapeutic drug monitoring. *Blood.* 2010;115:4597-604.
 67. Gholson CF, Yau JC, LeMaistre CF, Cleary KR. Steroid-responsive chronic hepatic graft-versus-host disease without extrahepatic graft-versus-host disease. *Am J Gastroenterol.* 1989;84:1306-9.
 68. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician.* 2005;71:1105-10.
 69. 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;89:4531-36.
 70. Giralt S, Ballen K, Rizzo D et al. Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15:367-9.
 71. 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;321:1174-8.
 72. Glucksberg H, Storb R, Fefer A et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974;18:295-304.
 73. Goekkurt E, Stoeblmacher J, Stueber C et al. Pharmacogenetic analysis of liver toxicity after busulfan/cyclophosphamide-based allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Anticancer Res.* 2007;27:4377-80.
 74. 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;16:3796-802.
 75. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2010;363:2091-101.

76. 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;352:1087-92.
77. Gratwohl A, Stern M, Brand R et al. European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Leukemia Net. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer*. 2009;115:4715-26.
78. Gratwohl A. The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47:749-56.
79. Gries CJ, Rue TC, Heagerty PJ, Edelman JD, Mulligan MS, Goss CH. Development of a predictive model for long-term survival after lung transplantation and implications for the lung allocation score. *J Heart Lung Transplant*. 2010 Jul;29(7):731-8.
80. 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;43:133-9.
81. Hamaki T, Kami M, Igarashi M. Non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of adult T-cell lymphoma in a patient with advanced hepatic impairment. *Leuk Lymphoma*. 2003;44:703-8.
82. Hammond SP, Borchelt AM, Ukomadu C, Ho VT, Baden LR, Marty FM. Hepatitis B virus reactivation following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:1049-59.
83. Hassan Z, Hellström-Lindberg E, Alsadi S et al. The effect of modulation of glutathione cellular content on busulphan-induced cytotoxicity on hematopoietic cells in vitro and in vivo. *Bone Marrow Transplant*. 2002;30:141-7.
84. Hashiguchi M, Okamura T, Yoshimoto K et al. Demonstration of reversed flow in segmental branches of the portal vein with hand-held color Doppler ultrasonography after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36:1071-5.
85. Hausmann U, Fischer J, Eber S, Scherer F, Seger R, Gungor T. Hepatic veno-occlusive disease in pediatric stem cell transplantation: impact of pre-emptive antithrombin III replacement and combined antithrombin III/defibrotide therapy. *Haematologica* 2006; 91: 795–800.
86. Henrion J, Schapira M, Luwaert R, Colin L, Delannoy A, Heller FR. Hypoxic hepatitis: clinical and hemodynamic study in 142 consecutive cases. *Medicine (Baltimore)*. 2003;82:392-406.

87. Ho GT, Parker A, MacKenzie JF, Morris AJ, Stanley AJ. Abnormal liver function tests following bone marrow transplantation: aetiology and role of liver biopsy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16:157-62.
88. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE et al. (Ed.). *Hematology. Basic Principles and practice.* 6a edición. Elsevier Saunders. Philadelphia (EEUU); 2013.
89. Hogan WJ, Maris M, Storer B, et al. Hepatic injury after nonmyeloablative conditioning followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation: a study of 193 patients. *Blood.* 2004;103:78-84.
90. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood.* 1990;75:555-62.
91. Hovs JM, Passweg JR, Tichelli A et al. Comparison of long-term outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from matched sibling and unrelated donors. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38:799-805.
92. Hui CK, Lie A, Au WY, et al. A long-term follow-up study on hepatitis B surface antigen-positive patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2005;106:464-9.
93. Idilman R, Ustün C, Karayalçın S et al. Hepatitis B virus vaccination of recipients and donors of allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Clin Transplant.* 2003;17:438-43.
94. Jacobson LO, Simmons EL, Marks EK, Robson MJ, Bethard WF, Gaston EO. The role of the spleen in radiation injury and recovery. *J Lab Clin Med.* 1949;35:746-70.
95. Johansson JE, Brune M, Ekman T. The gut mucosa barrier is preserved during allogeneic, haemopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28:737-42.
96. Juliusson G, Karlsson K, Lazarevic VLj et al. Hematopoietic stem cell transplantation rates and long-term survival in acute myeloid and lymphoblastic leukemia: real-world population-based data from the Swedish Acute Leukemia Registry 1997-2006. *Cancer.* 2011;117:4238-46.
97. Kaplowitz N, DeLeve LD (Ed) *Cancer chemotherapy. A.: Drug Induced Liver Disease,* 2a edición. Marcel Dekker. New York (EEUU); 2007.
98. Kernan NA, Bordignon C, Heller G et al. Graft failure after T-cell-depleted human leukocyte antigen identical marrow transplants for leukemia: I. Analysis of risk factors and results of secondary transplants. *Blood.* 1989;74:2227-36.
99. 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;111:5530-6.

100. 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;119:6373-8.
101. Kis B, Pamarthi V, Fan CM, Rabkin D, Baum RA. Safety and utility of transjugular liver biopsy in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Vasc Interv Radiol*. 2013;24:85-9.
102. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood*. 1995;86:2041-50.
103. Kornblum N, Ayyanar K, Benimetskaya L, Richardson P, Iacobelli M, Stein CA. Defibrotide, a polydisperse mixture of single-stranded phosphodiester oligonucleotides with lifesaving activity in severe hepatic veno-occlusive disease: clinical outcomes and potential mechanisms of action. *Oligonucleotides*. 2006;16:105-14.
104. Kusumi E, Kami M, Kanda Y et al. Hepatic injury following reduced intensity unrelated cord blood transplantation for adult patients with hematological diseases. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006;12:1302-9.
105. 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;14:1039-44.
106. Lalazar G, Rund D, Shouval D, et al. Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. *Br J Haematol*. 2007;136:699-712.
107. 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;351:2265-75.
108. Lee JH, Lee KH, Lee JH et al. Plasminogen activator inhibitor-1 is an independent diagnostic marker as well as severity predictor of hepatic veno-occlusive disease after allogeneic bone marrow transplantation in adults conditioned with busulphan and cyclophosphamide. *Br J Haematol*. 2002;118:1087-94.
109. Lee DH, Blomhoff R, Jacobs DR Jr. Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? *Free Radic Res*. 2004;38:535-9.
110. Lee DH, Jacobs DR Jr. Serum gamma-glutamyltransferase: new insights about an old enzyme. *J Epidemiol Community Health*. 2009;63:884-6.
111. Lehmann S, Isberg B, Ljungman P, Paul C. Cardiac systolic function before and after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2000;26:187-92.
112. Locasciulli A, Alberti A, de Bock R et al. Impact of liver disease and hepatitis

- infections on allogeneic bone marrow transplantation in Europe: a survey from the European Bone Marrow Transplantation (EBMT) Group--Infectious Diseases Working Party. *Bone Marrow Transplant.* 1994;14:833-7.
113. MacMillan ML, Weisdorf DJ, Wagner JE et al. Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2002;8:387-94.
114. Mahindra A, Bolwell B, Sobecks R et al. Elevated pretransplant ferritin is associated with a lower incidence of chronic graft-versus-host disease and inferior survival after myeloablative allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2009;146:310-6.
115. Majhail NS, Brunstein CG, Tomblyn M et al. Reduced-intensity allogeneic transplant in patients older than 55 years: unrelated umbilical cord blood is safe and effective for patients without a matched related donor. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:282-9.
116. Maradei SC, Maiolino A, de Azevedo AM et al. Serum ferritin as risk factor for sinusoidal obstruction syndrome of the liver in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2009;114:1270-5.
117. Marks R, Potthoff K, Hahn J et al. Reduced-toxicity conditioning with fludarabine, BCNU, and melphalan in allogeneic hematopoietic cell transplantation: particular activity against advanced hematologic malignancies. *Blood.* 2008;112:415-25.
118. Martino R, Maertens J, Bretagne S et al. Toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2000;31:1188-95.
119. 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;11:437-47.
120. Matsue K, Aoki T, Odawara J et al. High risk of hepatitis B-virus reactivation after hematopoietic cell transplantation in hepatitis B core antibody-positive patients. *Eur J Haematol.* 2009;83:357-64.
121. McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med.* 1993;118:255-67.
122. McDonald GB. Hepatobiliary complications of hematopoietic cell transplantation, 40 years on. *Hepatology.* 2010;51:1450-60.
123. Mielcarek M, Leisenring W, Torok-Storb B, Storb R. Graft-versus-host disease and donor-directed hemagglutinin titers after ABO-mismatched related and unrelated

- marrow allografts: evidence for a graft-versus-plasma cell effect. *Blood*. 2000;96:1150-6.
124. Morita-Hoshi Y, Mori SI, Soeda A et al. Identification of molecular markers for pre-engraftment immune reactions after cord blood transplantation by SELDI-TOF MS. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45:1594-601.
125. Morrison M, Samwick AA. Intramedullary (sternal) transfusion of human bone marrow. *JAMA* 1940;115:1708-11.
126. Nonomura A, Kono N, Yoshida K, Mizukami Y, Matsubara F, Nakanuma Y. Histological changes of the liver in experimental graft-versus-host disease across minor histocompatibility barriers. IV. A study of lymphocyte-endothelial interaction. *Liver*. 1989;9:294-301.
127. Parimon T, Au DH, Martin PJ, Chien JW. A risk score for mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Ann Intern Med*. 2006;144:407-14.
128. Park SH, Lee MH, Lee H et al. A randomized trial of heparin plus ursodiol vs. heparin alone to prevent hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29:137-43.
129. Parker JE, Shafi T, Pagliuca A et al. Allogeneic stem cell transplantation in the myelodysplastic syndromes: interim results of outcome following reduced-intensity conditioning compared with standard preparative regimens. *Br J Haematol*. 2002;119:144-54.
130. Parodi L, Pickering E, Cisar LA, Lee D, Soufi-Mahjoubi R. Utility of Pretreatment Bilirubin Level and UGT1A1 Polymorphisms in Multivariate Predictive Models of Neutropenia Associated with Irinotecan Treatment in Previously Untreated Patients with Colorectal Cancer. *Arch Drug Inf*. 2008;1: 97-106.
131. Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A et al. The EBMT activity survey: 1990-2010. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47:906-23.
132. 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;34:389-96.
133. Peffault de Latour R, Lévy V, Asselah T et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after bone marrow transplantation. *Blood*. 2004;103:1618-24.
134. 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;15:21-9.
135. Pollack SM, Steinberg SM, Odom J, Dean RM, Fowler DH, Bishop MR. Assessment of the hematopoietic cell transplantation comorbidity index in non-Hodgkin lymphoma patients receiving reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

- Biol Blood Marrow Transplant. 2009;15:223-30.
136. Powles R, Mehta J, Kulkarni S, et al. Allogeneic blood and bone-marrow stemcell transplantation in haematological malignant diseases: a randomised trial. *Lancet* 2000;355:1231-7.
 137. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med*. 2000;342:1266-71.
 138. Pullarkat V, Blanchard S, Tegtmeier B et al. Iron overload adversely affects outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2008;42:799-805.
 139. Qureshi A, Marshall L, Lancaster D. Defibrotide in the prevention and treatment of veno-occlusive disease in autologous and allogeneic stem cell transplantation in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;50:831-2.
 140. Ramos CA, Saliba RM, de Pádua L et al. Impact of hepatitis C virus seropositivity on survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematologic malignancies. *Haematologica*. 2009;94:249-5.
 141. Richardson PG, Soiffer RJ, Antin JH et al. Defibrotide for the treatment of severe hepatic veno-occlusive disease and multiorgan failure after stem cell transplantation: a multicenter, randomized, dose-finding trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16:1005-17.
 142. Robin M, Porcher R, de Castro R et al. Initial liver involvement in acute GVHD is predictive for nonrelapse mortality. *Transplantation*. 2009;88:1131-6.
 143. Rocha V, Porcher R, Fernandes JF et al. Association of drug metabolism gene polymorphisms with toxicities, graft-versus-host disease and survival after HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for patients with leukemia. *Leukemia*. 2009;23:545-56.
 144. Rodrigues CA, Sanz G, Brunstein CG et al. Analysis of risk factors for outcomes after unrelated cord blood transplantation in adults with lymphoid malignancies: a study by the Eurocord-Netcord and lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol*. 2009;27:256-63.
 145. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft versus host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol*, 1997;97: 855-64.
 146. Ruhl CE, Everhart JE. Elevated serum alanine aminotransferase and gamma-glutamyltransferase and mortality in the United States population. *Gastroenterology*. 2009;136:477-85.e11.

147. Ruutu T, Eriksson B, Remes K et al. Nordic Bone Marrow Transplantation Group. Ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic complications in allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002;100:1977-83.
148. Ruutu T, Volin L, Beelen DW et al. Reduced-toxicity conditioning with treosulfan and fludarabine in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes: final results of an international prospective phase II trial. *Haematologica*. 2011;96:1344-50.
149. Ruutu T, Juvonen E, Remberger M et al. Improved survival with ursodeoxycholic acid prophylaxis in allogeneic stem cell transplantation: long-term follow-up of a randomized study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:135-8.
150. Sakai M, Strasser SI, Shulman HM, McDonald SJ, Schoch HG, McDonald GB. Severe hepatocellular injury after hematopoietic cell transplant: incidence, etiology and outcome. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:441-7.
151. Sakaguchi H, Watanabe N, Muramatsu H et al. Danaparoid as the prophylaxis for hepatic veno-occlusive disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in childhood hematological malignancy. *Pediatr Blood Cancer*. 2010 1;55:1118-25.
152. Saliba RM, de Lima M, Giral S et al. Hyperacute GVHD: risk factors, outcomes, and clinical implications. *Blood*. 2007;109:2751-8.
153. 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;309:1347-53.
154. Seddiki N, Santner-Nanan B, Tangye SG et al. Persistence of naive CD45RA+ regulatory T cells in adult life. *Blood*. 2006;107:2830-8.
155. Sekharam M, Trotti A, Cunnick JM, Wu J. Suppression of fibroblast cell cycle progression in G1 phase by N-acetylcysteine. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1998;149:210-6.
156. Shimizu T, Kasahara M, Tanaka K. Living-donor liver transplantation for chronic hepatic graft-versus-host disease. *The New England Journal of Medicine*. 2006; 354:1536-1537.
157. Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB et al. Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science*. 1999;285:412-5.
158. Shulman HM, Sharma P, Amos D, Fenster LF, McDonald GB. A coded histologic study of hepatic graft-versus-host disease after human bone marrow transplantation. *Hepatology*. 1988;8:463-70.
159. Shulman HM, Hinterberger W. Hepatic veno-occlusive disease--liver toxicity syndrome after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1992;10:197-214.

160. Shulman HM, Fisher LB, Schoch HG, Henne KW, McDonald GB. Venous-occlusive disease of the liver after marrow transplantation: histological correlates of clinical signs and symptoms. *Hepatology*. 1994;19:1171-81.
161. Shulman HM, Kleiner D, Lee SJ et al. Histopathologic diagnosis of chronic graft-versus-host disease: National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: II. Pathology Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006;12:31-47.
162. Simon M, Hahn T, Ford LA et al. Retrospective multivariate analysis of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: possible beneficial use of low molecular weight heparin. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27:627-33.
163. Sjöo F, Aschan J, Barkholt L, Hassan Z, Ringdén O, Hassan M. N-acetyl-L-cysteine does not affect the pharmacokinetics or myelosuppressive effect of busulfan during conditioning prior to allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;32:349-54.
164. Slavin S, Fuks Z, Kaplan HS, Strober S. Transplantation of allogeneic bone marrow without graft-versus-host disease using total lymphoid irradiation. *J Exp Med*. 1978;147:963-72.
165. 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.
166. 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;106:2912-9.
167. 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;110:4606-13.
168. 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;23:5074-87.
169. Stewart FM, Crittenden RB, Lowry PA, Pearson-White S, Quesenberry PJ. Long-term engraftment of normal and post-5-fluorouracil murine marrow into normal nonmyeloablated mice. *Blood*. 1993;81:2566-71.

170. Storb R, Yu C, Wagner JL et al. Stable mixed hematopoietic chimerism in DLA-identical littermate dogs given sublethal total body irradiation before and pharmacological immunosuppression after marrow transplantation. *Blood*. 1997;89:3048-54.
171. Strasser SI, McDonald GB. Hepatitis viruses and hematopoietic cell transplantation: A guide to patient and donor management. *Blood*. 1999;93:1127-36.
172. Strasser SI, Shulman HM, Flowers ME et al. Chronic graft-vs-host disease of the liver: presentation as an acute hepatitis. *Hepatology*. 2000;32:1265-1271.
173. Strasak AM, Rapp K, Brant LJ, et al. Association of gamma-glutamyltransferase and risk of cancer incidence in men: a prospective study. *Cancer Res*. 2008;68:3970-7.
174. Subbarao G, Haut PR, Johnson CS, Gowan D, Molleston JP. Incidence, etiology, and risk factors for liver dysfunction in children following hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. 2006;10:682-9.
175. Sucak GT, Yegin ZA, Ozkurt ZN, Aki SZ, Karakan T, Akyol G. The role of liver biopsy in the workup of liver dysfunction late after SCT: is the role of iron overload underestimated? *Bone Marrow Transplant*. 2008;42:461-7.
176. Sullivan KM, Deeg HJ, Sanders J et al. Hyperacute graft-v-host disease in patients not given immunosuppression after allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 1986;67:1172-5.
177. Szydlo R, Goldman JM, Klein JP et al. Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J Clin Oncol*. 1997;15:1767-77.
178. Takatsuka H, Takemoto Y, Iwata N et al. Oral eicosapentaenoic acid for complications of bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2001;28:769-74.
179. Tay J, Tinmouth A, Fergusson D, Huebsch L, Allan DS. Systematic review of controlled clinical trials on the use of ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic veno-occlusive disease in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13:206-17.
180. Tazuke Y, Teitelbaum DH. Alteration of canalicular transporters in a mouse model of total parenteral nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;48:193-202
181. 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;8:817-21.
182. Tsuboi A, Oka Y, Kyo T et al. Long-term WT1 peptide vaccination for patients with acute myeloid leukemia with minimal residual disease. *Leukemia*. 2012;26:1410-3.

183. Tuncer HH, Rana N, Milani C, Darko A, Al-Homsi SA. Gastrointestinal and hepatic complications of hematopoietic stem cell transplantation. *World J Gastroenterol.* 2012;18:1851-60.
184. 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;26:577-84.
185. van Burik JH, Leisenring W, Myerson D et al. The effect of prophylactic fluconazole on the clinical spectrum of fungal diseases in bone marrow transplant recipients with special attention to hepatic candidiasis. An autopsy study of 355 patients. *Medicine (Baltimore).* 1998;77:246-54.
186. van Kampen RJ, Canals C, Schouten HC et al. Allogeneic stem-cell transplantation as salvage therapy for patients with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma relapsing after an autologous stem-cell transplantation: an analysis of the European Group for Blood and Marrow Transplantation Registry. *J Clin Oncol.* 2011;29:1342-8.
187. Via CS, Finkelman FD. Critical role of interleukin-2 in the development of acute graft-versus-host disease. *Int Immunol.* 1993;5:565-72.
188. Vierling JM. Immune disorders of the liver and bile duct. *Gastroenterol Clin North Am.* 1992;21:427-49.
189. 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.
190. Xhaard A, Porcher R, Chien JW, et al. Impact of comorbidity indexes on non-relapse mortality. *Leukemia.* 2008;22:2062-9.
191. Yoshikawa M, Tsujii T, Matsumara K, Yamao J, Matsamura Y, Kubo R. Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune responses. *Hepatology.* 1992;16:358-364.
192. Yu C, Seidel K, Nash RA, Deeg HJ, Sandmaier BM, Barsoukov A, Santos E, Storb R. Synergism between mycophenolate mofetil and cyclosporine in preventing graft-versus-host disease among lethally irradiated dogs given DLA-nonidentical unrelated marrow grafts. *Blood.* 1998;91:2581-7.
193. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, de Witte T et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med.* 1995;332:217-23

