

**VNiVERSiDAD D SALAMANCA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**HEMATOLOGÍA**

---



**TESIS DOCTORAL**

**COMPLICACIONES TROMBÓTICAS Y  
HEMORRÁGICAS RELACIONADAS CON EL  
TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES  
HEMATOPOYÉTICOS. INCIDENCIA, FACTORES  
DE RIESGO Y SIGNIFICADO PRONÓSTICO**

**Jorge Labrador Gómez**

**2015**



La presente tesis doctoral corresponde a un compendio de 3 trabajos previamente publicados y 1 trabajo enviado a revisar para su posterior publicación, que se especifican a continuación:

**1) Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients.**

Jorge Labrador<sup>1</sup>, Lucía López-Anglada<sup>1</sup>, Estefanía Pérez-López<sup>1</sup>, Francisco S. Lozano<sup>2</sup>, Lucía Lopez-Corral<sup>1</sup>, Fermín M. Sánchez-Guijo<sup>1</sup>, Lourdes Vázquez<sup>1</sup>, Jose Angel Pérez-Rivera<sup>3</sup>, Francisco Martín-Herrero<sup>3</sup>, Mercedes Sánchez-Barba<sup>4</sup>, Carmen Guerrero<sup>5</sup>, María Consuelo del Cañizo<sup>1</sup>; María Dolores Caballero<sup>1</sup>, Jesús Fernando San Miguel<sup>1</sup>, Ignacio Alberca<sup>1</sup> and José Ramón Gonzalez-Porras<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Hematología, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca; <sup>2</sup> Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca; <sup>3</sup> Servicio de Cardiología, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca; <sup>4</sup> Departamento de Estadística, Universidad de Salamanca; <sup>5</sup> Departamento de Medicina, IBMCC e IBSAL, Universidad de Salamanca-CSIC, Salamanca.

Haematologica. 2013; 98(3): 437-443. DOI: 10.3324/haematol.2012.069559.

**2) Incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic stem cell transplant**

Jorge Labrador<sup>1,2,3</sup>, Lucía López-Corral<sup>1</sup>, Lourdes Vazquez<sup>1</sup>, Fermín Sánchez-Guijo<sup>1</sup>, Carmen Guerrero<sup>3</sup>, Mercedes Sánchez-Barba<sup>4</sup>, Francisco S. Lozano<sup>5</sup>, Ignacio Alberca<sup>1</sup>, María C. del Cañizo<sup>1,3</sup>, Dolores Caballero<sup>1</sup> y José Ramón González-Porras<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL); <sup>2</sup> Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Burgos; <sup>3</sup> Centro de Investigación del Cáncer, IBMC Departamento de Medicina, USAL, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL); <sup>4</sup> Departamento de Estadística, Universidad de Salamanca; <sup>5</sup> Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

British Journal of Haematology. 2015; 169(5): 719-725. DOI: 10.1111/bjh.13344.

**3) Management patterns and outcomes in symptomatic non-catheter related venous thromboembolism following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.**

Jorge Labrador<sup>1</sup>, Joaquín González Rivero<sup>2</sup>, Lucía López-Corral<sup>2</sup>, Raquel Monroy<sup>2</sup>, Francisco S. Lozano<sup>3</sup>, María Dolores Caballero<sup>2</sup>, José María Bastida<sup>2</sup> y José Ramón González-Porras<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Burgos; <sup>2</sup> Servicio de Hematología, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca; <sup>3</sup> Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

Enviado para su publicación.

**4) Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving graft versus host disease prophylaxis with tacrolimus plus methotrexate or sirolimus.**

Jorge Labrador<sup>1,2</sup>, Lucía López-Corral<sup>1</sup>, Oriana López-Godino<sup>1</sup>, Lourdes Vázquez<sup>1</sup>, Mónica Cabrero-Calvo<sup>1</sup>, Roberto Pérez-López<sup>3</sup>, María Díez-Campelo<sup>1</sup>, Fermín Sánchez-Guijo<sup>1</sup>, Estefanía Pérez-López<sup>1</sup>, Carmen Guerrero<sup>2</sup>, Ignacio Alberca<sup>1</sup>, María Consuelo del Cañizo<sup>1,2</sup>, José Antonio Pérez-Simón<sup>4</sup>, José Ramón González-Porras<sup>1</sup> and Dolores Caballero<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL); <sup>2</sup> Centro de Investigación del Cáncer, IBMC/CSIC-USAL, Salamanca; <sup>3</sup> Servicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario de Salamanca; <sup>4</sup> Servicio de Hematología, Hospital Universitario / Instituto de Biomedicina (IBIS) / CSIC, Sevilla.

Bone Marrow Transplantation 2014; 49(5): 684-690. DOI: 10.1038/bmt.2014.17.

D. José Ramón González Porras, Doctor en Medicina, Profesor Asociado de la Facultad de Medicina y Médico Adjunto del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca.

D<sup>a</sup>. María Dolores Caballero Barrigón, Doctora en Medicina, Profesora Asociada de la Facultad de Medicina y Jefa de Sección del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca.

D<sup>a</sup>. Lucía López Corral, Doctora en Medicina, y Médico Adjunto del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca.

**CERTIFICAN:**

Que el trabajo doctoral por compendio de artículos realizado bajo su dirección por D. Jorge Labrador Gómez, titulado *“COMPLICACIONES TROMBÓTICAS Y HEMORRÁGICAS RELACIONADAS CON EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS. INCIDENCIA, FACTORES DE RIESGO Y SIGNIFICADO PRONÓSTICO”*, reúne las condiciones de originalidad requeridas para la obtención del título del grado de Doctor en Medicina por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, firman la presente certificación en Salamanca, a 25 de Noviembre de 2015.

Fdo. Dr. J. R. González

Fdo. Dra. M. D. Caballero

Fdo. Dra. L. López



*A mis padres*

*A mis hermanos*

*A mi abuela*





# **AGRADECIMIENTOS**



A los directores de este trabajo:

Al Dr. José Ramón González Porras, por darme la oportunidad de hacer esta tesis, por compartir conmigo todos sus sinsabores, y darme su aliento en los momentos más complicados.

A la Dra. Dolores Caballero, por enseñarme el lado más clínico de esta Especialidad.

A la Dra. Lucía López Corral, por su tiempo y su refuerzo positivo.

A mis compañeras de Residencia en el Servicio de Hematología de Salamanca, Mónica y Estefanía, por hacer felices mis horas de trabajo y ofrecerme su amistad.

A Oriana, por su apoyo incondicional y por todas las penas y alegrías compartidas.

A todos los demás adjuntos y residentes del Servicio de Hematología de Salamanca, por todo lo aprendido y compartido durante mis años de residente. A las enfermeras de trasplante, a Rosa, Irene y todo el equipo de Data Managers, por su cariño y colaboración.

A la Dra. Merche Goñi, por acogerme y apoyarme con una sonrisa desde el primer día que llegué a Burgos.

A mis compañeros del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Burgos, por su ayuda y su compañerismo.

A “la rubia pequeñita”, por darme tanto a cambio de tan poco.

A mi hermano Pedro Jesús, a su mujer, Eva, y a mis sobrinos, Clara y Pablo, porque los quiero mucho.

Y mi más profundo agradecimiento es para mis padres, por estar siempre a mi lado.

A mi padre, a quien debo mi vocación, ejemplo de vida a pesar de todas nuestras diferencias. Y a mi madre, por su cariño y paciencia infinita conmigo.

Para vosotros, que sois una parte muy importante, y para todos aquellos que no he podido nombrar, pero con quien quiero seguir compartiendo mi vida, es esta tesis.



*“Hay un cielo en esta tierra  
para cada uno de nosotros  
si somos capaces de encontrarlo.  
Yo, todos los días, a cachinos,  
estoy locamente buscándolo.”*

MANOLILLO CHINATO



## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**





- AIR:** Acondicionamiento de intensidad reducida
- Alo-TPH:** Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
- ATG:** Timoglobulina
- CPH:** Células progenitoras hematopoyéticas
- CsA:** Ciclosporina
- CVC:** Catéter venoso central
- Cy:** Ciclofosfamida
- DE:** Donante emparentado
- DNE:** Donante no emparentado
- EICH:** Enfermedad injerto contra huésped
- ETEs:** Eventos tromboembólicos
- ETEV:** Eventos tromboembólicos venosos
- FvW:** Factor von Willebrand
- HBPM:** Heparina de bajo peso molecular
- HLA:** Antígenos leucocitarios humanos
- I.C.:** Intervalo de confianza
- ICT:** Irradiación corporal total
- IL:** Interleuquina
- I.V.:** Intravenoso/a
- MA:** Mieloablativo
- MAT-AT:** Microangiopatía trombótica asociada al trasplante.
- MO:** Médula ósea
- MTX:** Metotrexato

**O.R.:** “Odds ratio”

**PAI-1:** inhibidor del activador del plasminógeno-1

**PH:** Progenitores hematopoyéticos

**PTT:** Púrpura trombótica trombocitopénica

**REDMO:** Registro Español de Donantes de Médula Ósea

**RPT:** Recambio plasmático total

**RR:** Riesgo relativo

**SCU:** Sangre de cordón umbilical

**SG:** Supervivencia global

**SIR:** Sirolimus

**SHU:** Síndrome hemolítico urémico

**SHUa:** Síndrome hemolítico urémico atípico

**SP:** Sangre periférica

**TAC:** Tacrolimus

**TAPH:** Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

**TEA:** Tromboembolismo arterial

**TEP:** Tromboembolismo pulmonar

**TPH:** Trasplante de progenitores hematopoyéticos

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa

**TVP:** Trombosis venosa profunda

# ÍNDICE

---



<b>GLOSARIO DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>XV</b>
<b>ÍNDICE .....</b>	<b>XIX</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.    Introducción al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.....	3
1.1.    Historia del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.....	3
1.2.    Tipos de trasplante.....	6
1.3.    Complicaciones del Alo-TPH .....	10
2.    Introducción a las alteraciones de la hemostasia en el Alo-TPH.....	18
2.1.    Eventos tromboembólicos venosos.....	19
2.2.    Eventos tromboembólicos arteriales.....	28
2.3.    Hemorragias.....	30
2.4.    Microangiopatía trombótica asociada al trasplante.....	41
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
Hipótesis.....	57
Objetivos .....	58
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>65</b>
ARTÍCULO 1: Análisis de la incidencia, factores de riesgo y evolución clínica de los eventos tromboembólicos y hemorrágicos en 431 receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. ....	69
ARTÍCULO 2: Incidencia y factores de riesgo de hemorragia amenazante de la vida tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. ....	79
ARTÍCULO 3: Manejo antitrombótico y evolución de los eventos tromboembólicos venosos no relacionados con el catéter tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.....	89
ARTÍCULO 4: Factores de riesgo de microangiopatía trombótica asociada a trasplante en receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos que recibieron profilaxis para enfermedad injerto contra huésped con tacrolimus más metotrexato o más sirolimus.....	99

<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>109</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>113</b>
<b>MATERIAL DERIVADO DE LOS TRABAJOS .....</b>	<b>133</b>

# **INTRODUCCIÓN**

---





# **1. INTRODUCCIÓN AL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**

## **1.1. HISTORIA DEL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento médico altamente especializado y complejo que consiste en la infusión de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) procedentes bien del propio enfermo (Trasplante Autólogo – TAPH –), lo que permite la administración de altas dosis de quimioterapia evitando así una aplasia prolongada o irreversible; o bien procedentes de un donante sano (Trasplante Alogénico – Alo-TPH –) emparentado o no emparentado, para así sustituir la hematopoyesis defectuosa del paciente por otra sana.

Los inicios de este procedimiento comenzaron a finales del siglo XIX, cuando Brown-Sequard administró médula ósea (MO) por vía oral como tratamiento de los pacientes con anemia<sup>1</sup>. En 1939, Rasjek y Osgood emplearon MO por vía intramedular e intravenosa (i.v.), respectivamente, para el tratamiento de pacientes con leucemia y aplasia medular<sup>1,2</sup>. Sin embargo, fue a finales de la Segunda Guerra Mundial, tras las explosiones de las bombas atómicas, cuando se aceleraron las investigaciones en animales, después de estudiar los daños sufridos por la población japonesa que había sobrevivido a la radiación, llegándose a la conclusión de que la MO y por tanto, el Sistema Hematopoyético, era el más sensible a la radiación, y que la muerte debida a bajas dosis de radiación era debida principalmente al fallo medular secundario<sup>3</sup>. En 1949, Jacobson dio fundamento a la investigación sobre el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) al demostrar que los ratones podían recuperar una hematopoyesis normal y sobrevivir a la Irradiación Corporal Total (ICT) si se protegía el bazo con una lámina de plomo<sup>4</sup>. Posteriormente, Lorenz y cols. demostraron que la infusión de células procedentes de la MO de otro ratón también les permitía sobrevivir a la ICT<sup>5,6</sup>.

En 1956, Barnes comenzó a tratar ratones con leucemia administrando dosis letales de radiación seguida por la infusión de células de MO<sup>7</sup>. Sin embargo, observó que los animales que habían recibido células de una MO que no fuera singénica morían de un “síndrome secundario”, no conocido hasta ese momento, y que conocemos como enfermedad injerto contra huésped (EICH).

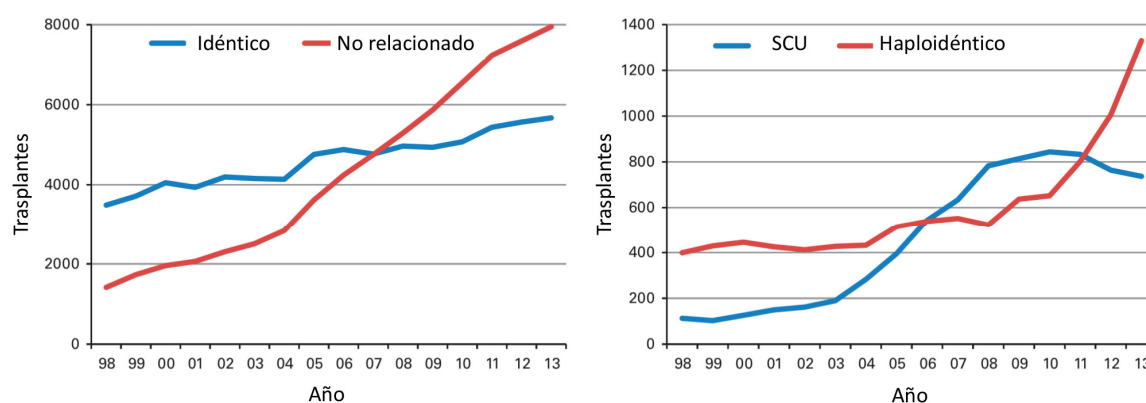
En 1957, E.D. Tomas publicó sus primeras experiencias en humanos sobre el empleo de quimioterapia e ICT seguida de la infusión i.v. de MO en el tratamiento de seis pacientes con leucemia aguda<sup>8</sup>. Aunque fracasaron, pues el injerto fue breve, permitieron establecer que era posible infundir grandes cantidades de MO. Otro intento, también fallido, fue llevado a cabo poco después por G. Mathé, quien administró MO por vía i.v. a las víctimas de un accidente nuclear<sup>9</sup>. En 1959, Thomas y cols. documentaron el trasplante de 2 pacientes con leucemia aguda linfoblástica avanzada que recibieron ICT seguido de la infusión de MO de sus hermanos gemelos. El resultado fue considerado un éxito, ya que la infusión de MO logró que el paciente recuperase la hematopoyesis en dos semanas, pero ambos murieron a los pocos meses por recaída de la enfermedad, estableciéndose que quizás se requería quimioterapia asociada a la ICT<sup>10</sup>.

En 1965, Mathé describe el primer largo superviviente, demostrando el concepto de inmunoterapia adoptiva contra leucemia, sin embargo el paciente falleció de varicela con EICH crónica<sup>11</sup>.

En 1970, M. Bortin revisó los resultados de 203 trasplantes realizados entre 1958 y 1968, con sólo 3 pacientes vivos en el momento del análisis, siendo las principales causas de muerte el fallo del injerto, el desarrollo de EICH, las recaídas y las infecciones intercurrentes. Por lo que concluyó que el Alo-TPH no era un tratamiento eficaz y fue abandonado por la mayoría de los investigadores<sup>12</sup>.

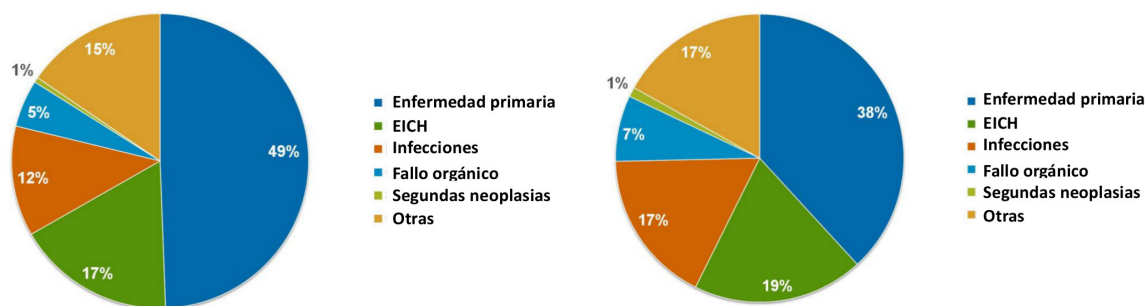
A lo largo de la década de los 60 se desarrollaron diversas medidas de soporte eficaces para mantener a pacientes con pancitopenias extremas y prolongadas, pero el gran avance vino gracias al descubrimiento del Sistema mayor de histocompatibilidad (HLA) por el profesor J. Dausset<sup>13</sup> y J.J. van Rood<sup>14</sup>. La experimentación animal mostró que sólo sobrevivían los animales que recibían un trasplante HLA idéntico, y la selección de donantes de MO con HLA idéntico disminuyó el riesgo de fallo del injerto y de EICH. Con todos estos avances, en 1968 pudo efectuarse con éxito el que se considera primer Alo-TPH de MO de la era moderna, en el que un paciente afecto de una inmunodeficiencia congénita recibió MO de un hermano con HLA idéntico<sup>15</sup>.

A partir de esta fecha, los progresos en esta modalidad terapéutica han sido constantes<sup>1,3</sup>. El conocimiento más profundo del Sistema HLA permitió crear los registros de donantes, de forma que en la actualidad, existen más de 25 millones de donantes no emparentados (DNE) en dichos registros. Ello permite que más de la mitad de los trasplantes en pacientes que no tienen un donante familiar HLA idéntico se realicen a partir de un DNE. Además, con la utilización de los factores de crecimiento, la donación de sangre periférica (SP) está sustituyendo a la MO como fuente de progenitores. Por otro lado, desde que en 1989 E. Gluckman publicó el primer trasplante de sangre cordón umbilical (SCU) en una niña con Anemia de Fanconi<sup>16</sup>, existen en los Bancos de Cordón más 200.000 unidades congeladas, y ésta es una fuente de CPH alternativa tanto en niños como en adultos. Para aquellos pacientes que requieren un trasplante “rápido” el Alo-TPH de SCU o la del trasplante haploidéntico (CPH obtenidas de donante familiar cuya compatibilidad HLA es del 50%) permiten hoy que un gran número de los pacientes cuya mejor opción terapéutica es el Alo-TPH sean finalmente trasplantados dada la rápida disponibilidad de estas dos fuentes alternativas (Figura 1).



**Figura 1. Número absoluto de Alo-TPH realizados en Europa entre 1998 y 2013.** Izquierda: Número absoluto de Alo-TPH de donante emparentado y de donante no relacionado realizados en Europa entre 1998-2013. Derecha: Número absoluto de Alo-TPH de sangre de cordón umbilical (SCU) y de donante haploidéntico realizados en Europa entre 1998-2013. Adaptado de Passweg JR y cols.<sup>17</sup>

Además, en los últimos años la mortalidad relacionada con el trasplante, que sigue siendo la primera causa de fracaso de este procedimiento después de la recaída de la enfermedad de base, se ha reducido gracias al mejor tratamiento de soporte, con mejor control de las infecciones y de la EICH, así como al uso de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (AIR), lo que ha permitido además ofrecer el trasplante a pacientes mayores de 60 años o con comorbilidades.



**Figura 2.** Causas de mortalidad de los Alo-TPH realizados durante 2010-2011 en Estados Unidos. Izquierda: Alo-TPH de donante emparentado HLA-idéntico. Derecha: Alo-TPH de donante no relacionado. Datos recogidos en el IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry)<sup>18</sup>

## 1.2. TIPOS DE TRASPLANTE

1) El TPH puede clasificarse en base a la procedencia de los progenitores hematopoyéticos (PH) en:

- A. Autólogo (TAPH): cuando las CPH proceden del propio paciente y han sido extraídas y criopreservadas días o semanas antes de iniciar el acondicionamiento.
- B. Alogénico (Alo-TPH): cuando las CPH proceden de un sujeto sano diferente del enfermo. Este es el verdadero trasplante, similar al trasplante de órganos sólidos.

Dependiendo de la enfermedad y de las características del paciente se establecerá cuál de las dos modalidades es mejor para el enfermo.

El Alo-TPH constituye el tratamiento de elección en una serie de enfermedades hematológicas (neoplásicas y no neoplásicas) y no hematológicas, tanto genéticas como adquiridas; mientras que el TAPH está indicado fundamentalmente en neoplasias hematológicas como linfomas y mieloma, oncológicas como neuroblastoma, tumores germinales o cerebrales, así como algunas enfermedades autoinmunes<sup>19</sup>.

De acuerdo con los datos recogidos en el IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry), al año se hacen en Estados Unidos más de 10000 TAPH y más de 5000 Alo-TPH<sup>18</sup>. Si vemos los datos del EBMT (European Bone Marrow Transplant Group), en la Figura 3a, en el año 2013 se realizaron en Europa casi 20000 TAPH y más de 14000 Alo-TPH, en 48 países con casi 700 centros trasplantadores<sup>17</sup>. En la Figura 3b se muestran los datos de España, según datos de la ONT (Organización Nacional de Trasplantes) ([www.ont.es](http://www.ont.es))<sup>20</sup>.

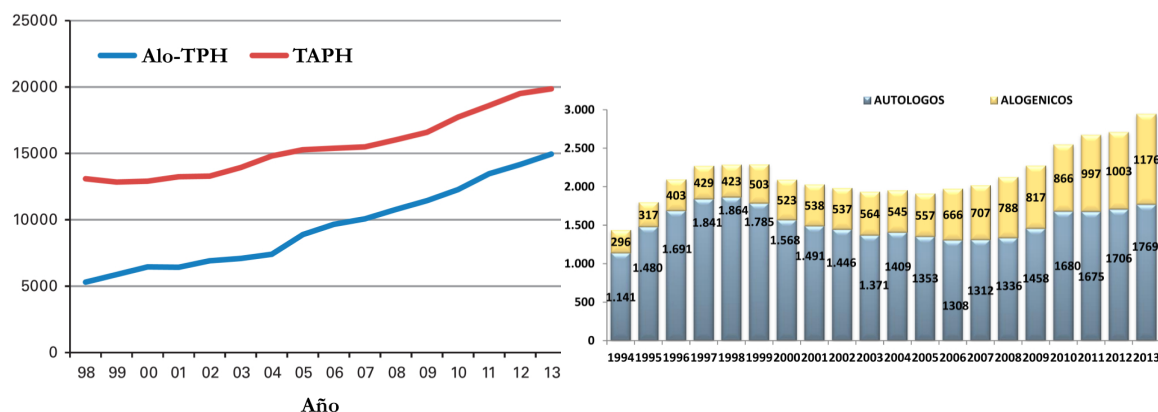


Figura 3a. Actividad de trasplante en Europa<sup>17</sup>. Figura 3b. Actividad de trasplante en España<sup>20</sup>.

## 2) Tipo de Alo-TPH según la procedencia del donante:

- A. Emparentado (DE): El Alo-TPH de DE será generalmente de un familiar de primer grado.
- B. No Emparentado (DNE): El donante no tiene ninguna relación genética con el paciente y procede de donantes inscritos en los Registros de Donantes (si es de MO o de SP) o de los Bancos de Cordón Umbilical. Esto es así porque la posibilidad de que el paciente tenga un donante entre sus hermanos con los dos haplotipos iguales es aproximadamente de un 25%; a esto hay que añadir que en la actualidad muchos pacientes no tienen hermanos.

## 3) Tipo de TPH según la identidad HLA:

La familia de genes responsable de la codificación de proteínas del sistema HLA (A, B, C y DR) se encuentra en una pequeña región del cromosoma 6 y se heredan generalmente en bloque como un “haplotipo” único; así habrá sólo 4 combinaciones posibles (dos del padre y dos de la madre). Entre dos hermanos, la posibilidad de que dichos haplotipos sean iguales, un haplotipo idéntico (haploidéntico) o distintos los dos será del 25%, 50% y 25% respectivamente. El padre o la madre y los hijos en general compartirán un haplotipo (haploidéntico), a no ser que el padre y madre tengan haplotipos iguales o parecidos.

El éxito del Alo-TPH será mayor cuanto mayor sea la identidad entre el donante y el receptor.

Así pues, el Alo-TPH según la identidad HLA podrá ser:

- A. Trasplante HLA idéntico familiar: cuando los PH proceden de un hermano que comparte los dos haplotipos con el paciente, los mismos antígenos de clase I (A, B y C) y de clase 2 (DR). La mayoría de los Alo-TPH se realizan a partir de donantes HLA idénticos (8/8). Si el paciente no tiene donante HLA idéntico entre sus hermanos se iniciará la búsqueda de un donante no emparentado (DNE).
  - B. Trasplante de donante no emparentado (DNE) idéntico: se intentará también que tenga una identidad máxima (lo ideal es un donante 8/8 o mejor 10/10, considerando también los antígenos DP y DQ). Para ello, se recurrirá a los registros a los que antes nos hemos referido (en España a través del REDMO – Registro Español de Donantes de Médula Ósea –).
  - C. Trasplante de DNE no idéntico: cuando la identidad es inferior a 8/8 o a 10/10 en Alo-TPH de DNE de MO o de SP. Esto tendrá influencia en la supervivencia, siendo inferior a medida que aumenta el número de incompatibilidades<sup>21</sup>.
  - D. En el Alo-TPH de SCU se entiende por no idéntico cuando la identidad HLA es inferior a 6/6; esta fuente de CPH permite una menor identidad entre donante y receptor (3-4/6), aunque los resultados serán mejores cuanto mayor sea la identidad<sup>22</sup>.
  - E. Trasplante alternativo familiar no idéntico. Trasplante haploidéntico: En la actualidad está aumentando la realización de trasplantes a partir de donantes emparentados que sólo comparten un haplotipo con el paciente; a este donante alternativo se le llama haploidéntico<sup>20</sup>. La utilización de ciclofosfamida como profilaxis de EICH ha permitido la realización de estos trasplantes sin deplecionar el inóculo de linfocitos T, por lo que la mortalidad y las complicaciones infecciosas son menores<sup>23-25</sup>. En España, en el año 2013, 171 pacientes recibieron un trasplante haploidéntico, lo que supone más del 20% del total; estos números seguro que aumentarán exponencialmente en los próximos años<sup>20</sup>.
- 4) Tipo de TPH según la fuente de progenitores:

Según la fuente de PH el trasplante puede ser de médula ósea (MO), sangre periférica (SP) o de cordón umbilical (SCU).

La elección entre una u otra fuente de PH depende de diversos factores como el tipo de TPH, la disponibilidad de donante compatible, la enfermedad de base (neoplásica o no), el

estado de la misma, el peso del receptor, la preferencia del donante, la urgencia en realizar el TPH y la experiencia del centro.

5) Tipo de Alo-TPH en base a la intensidad del acondicionamiento:

- A. Mieloablativos (MA): no permiten la recuperación hematológica autóloga tras 4 semanas (sin poner CPH). Consiste en la administración de dosis altas de quimioterapia +/- radioterapia para eliminar las células hematopoyéticas (y tumorales en neoplasias) del paciente, crear espacio medular para los nuevos PH e inmunodeprimir al paciente para evitar el rechazo de los nuevos PH<sup>26</sup>.
- B. De intensidad reducida (AIR): que puede ser parcialmente ablativo o no mieloablativo. Consiste en la administración de potentes inmunosupresores que facilitan el implante y la progresiva sustitución de la hemopoyesis del paciente por la del donante<sup>26</sup>.

Hasta mediados de los años 90, los Alo-TPH se hacían con acondicionamientos MA, realizándose muy pocos avances en este campo, manteniéndose los esquemas iniciales con ICT + altas dosis de ciclofosfamida, o busulfán + ciclofosfamida. Debido a la toxicidad y, por tanto, mortalidad inherente a estos acondicionamientos, la edad máxima para realizar un Alo-TPH eran los 40 – 45 años. Sin embargo, la edad media de los pacientes en muchas de las enfermedades subsidiarias de trasplante es superior a este límite. Esto, unido a la demostración de la existencia de un efecto beneficioso del trasplante no asociado a la quimio/radioterapia, sino a las células del donante, que llamamos efecto Injerto Contra Tumor, como se deduce del hecho de que la infusión de linfocitos del donante podía conseguir respuestas moleculares completas en pacientes con leucemia mieloide crónica que recaían tras un Alo-TPH, hizo que varios centros comenzaran a investigar la utilización de regímenes no mieloablativos o de intensidad reducida. El objetivo era ampliar este tratamiento a pacientes de edad superior a 50-55 años o con comorbilidades que lo contraindicaban por un riesgo inaceptable de mortalidad relacionada con el trasplante. Los estudios con agentes alquilantes, como la fludarabina, demostraron que un AIR seguido de una inmunosupresión adecuada permitía un injerto mixto estable con una EICH manejable<sup>27-29</sup>.

Todas las fuentes de progenitores, la MO, la SP y la SCU, ya sean de DE, DNE idéntico o no idéntico, haploidéntico se asocian con este efecto en mayor o menor grado, dependiendo también del tipo de enfermedad y de la situación de la misma al trasplante.

Dada la mortalidad asociada al procedimiento y a otras complicaciones diferentes según el donante y la fuente de PH que se use, estas características, además de las propias del paciente, de la urgencia del trasplante y, por supuesto, de la experiencia del centro, deben guiarnos para elegir el mejor procedimiento en cada caso.

### **1.3. COMPLICACIONES DEL ALO-TPH**

Las complicaciones del Alo-TPH son el resultado final de las repetidas agresiones sufridas por los órganos y tejidos del paciente a lo largo del procedimiento, por la toxicidad directa del acondicionamiento, la liberación masiva de citoquinas, las infecciones de repetición, los fenómenos inmunitarios que se producen y la toxicidad de los fármacos inmunosupresores empleados para la prevención de la EICH. Por tanto, los pacientes que reciben un Alo-TPH, pueden sufrir complicaciones a corto y largo plazo, por lo que requieren un largo seguimiento. Hay publicadas guías para el cribado y monitorización de los supervivientes a largo plazo<sup>30</sup>, y hay un creciente interés en investigar la calidad de vida de los pacientes que han sobrevivido a largo plazo. Los receptores de un Alo-TPH presentan un elevado riesgo infeccioso durante el periodo de reconstitución hematopoyética inmune y de diversas complicaciones a corto (en los primeros 3 meses) y largo plazo (posteriores a los 3 meses) relacionadas con la toxicidad del régimen de acondicionamiento. Además, los receptores de un Alo-TPH presentan el riesgo de EICH debido a la disparidad genética entre el donante y el receptor. En la tabla 1 se resumen las principales complicaciones del Alo-TPH<sup>31</sup>.



**Tabla 1. Principales complicaciones del trasplante de progenitores hematopoyéticos**

	Complicación	Incidencia
Infecciosas	Infecciones bacterianas	
	Bacteriemia por Gram-positivos	20-30%
	Bacteriemia por Gram-negativos	5-10%
	Infecciones víricas	
	Citomegalovirus (CMV)	5-40%*
	Virus herpes simple	5-10%**
	Virus varicela-zóster	10-50%**
	Virus respiratorios	10-20%
	Infecciones fúngicas	
	Candida	5-10%
	Aspergillus y otros filamentosos	5-15%
	Pneumocistis jiroveci	<1%
Otras infecciones		
Toxoplasma gondii	2-7%**	
Complicaciones precoces no infecciosas (0-3m)	Toxicidad relacionada con el acondicionamiento:	
	Mucositis	60-75%
	Cistitis hemorrágica	5-10%
	Enfermedad veno-oclusiva hepática	5-40%
	Neumonitis	10-20%
	Hemorragia alveolar	5-10%
	Fallo de injerto	2-10%
Reacciones adversas a los fármacos	Común	
Complicaciones tardías no infecciosas (>3m)	Específicos de cada órgano	
	Cataratas	25-40%
	Hipotiroidismo	30-50%
	Esterilidad/hipogonadismo	50-90%
	Alteraciones del crecimiento	30-50%***
	Osteoporosis/necrosis avascular	5-20%
	Recaída de la neoplasia	Variable
Segundas neoplasias	2-12%	
Enfermedad injerto contra huésped	Aguda	20-50% si DE
		40-90% si DNE
		20-50% si SCU
	Crónica	20-40% si DE, 40-70% si DNE 20-40% si SCU

m: meses. DE: Donante emparentado. DNE: Donante no emparentado. SCU: sangre de cordón umbilical.

\* En pacientes de alto riesgo: receptor CMV-seropositivo o receptor CMV-seronegativo con donante CMV-seropositivo.

\*\* En pacientes seropositivos.

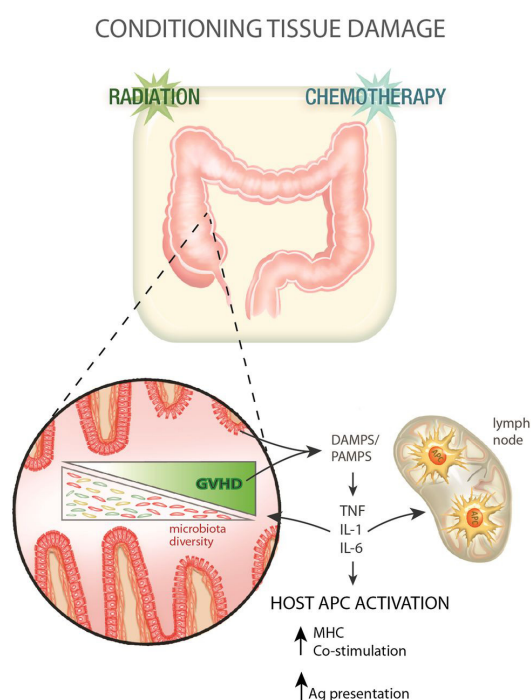
\*\*\* En niños prepúberes

Adaptado de Heslop HE, 2013<sup>31</sup>

### 1.3.1. Enfermedad injerto contra huésped

La EICH es el resultado de la agresión inmunológica por parte de las células linfoides infundidas contra los órganos del huésped y continúa siendo la principal causa de mortalidad, morbilidad y de disminución de la calidad de vida tras el Alo-TPH. En 1959, Billingham formuló tres requisitos para el desarrollo de EICH: 1) El injerto debe contener células inmunológicamente competentes; 2) el receptor debe expresar aloantígenos que puedan ser reconocidos como extraños por las células inmunocompetentes del injerto y, finalmente, 3) el receptor debe ser incapaz de provocar una respuesta inmune apropiada frente al injerto<sup>32</sup>.

Se pueden reconocer 3 fases en la fisiopatología de la EICH<sup>33,34</sup>. En la fase inicial (Figura 4), la quimioterapia y la radioterapia que se administran como parte del régimen de acondicionamiento u otros procesos inflamatorios intercurrentes (por ejemplo, infecciones) dan lugar a la liberación masiva de citoquinas proinflamatorias, responsables de la activación de las células dendríticas del receptor, necesarias para el inicio de las respuestas inmunes primaria y secundaria<sup>33,34</sup>. Una vez activadas, las células dendríticas actúan como presentadoras de antígenos del huésped a los linfocitos T del donante provocando su activación, proliferación y diferenciación (Figura 5a)<sup>34,35</sup>. Finalmente, esto da lugar a una apoptosis tisular mediada por linfocitos T citotóxicos, células NK y citoquinas inflamatorias y citolíticas (interleuquinas, interferón-gamma, factor de necrosis tumoral, entre otras), que inducen la muerte celular en los tejidos diana (Figura 5b), produciendo las manifestaciones clínicas de la EICH<sup>33,34,36</sup>



**Figura 4: Fases del desarrollo de EICH aguda. Efectos del régimen de acondicionamiento.**

La radiación y la quimioterapia utilizada para el acondicionamiento altera la integridad de la mucosa gastrointestinal; esto va a dar lugar a una transferencia de moléculas como lipopolisacáridos bacterianos y otras partículas patógenas o dañinas (de las siglas en inglés DAMPS/PAMS) provenientes de la microbiota que pasarán a la circulación sistémica. Estas moléculas activan el factor de necrosis tumoral (TNF) y las interleuquinas (IL) proinflamatorias 1 y 6 y, por consiguiente, las células presentadoras de antígenos (APCs) del receptor y las células T del donante que podrían a su vez producir más mediadores inflamatorios (TNF, IL 6).

Adaptado de Markey KA y cols.<sup>34</sup>

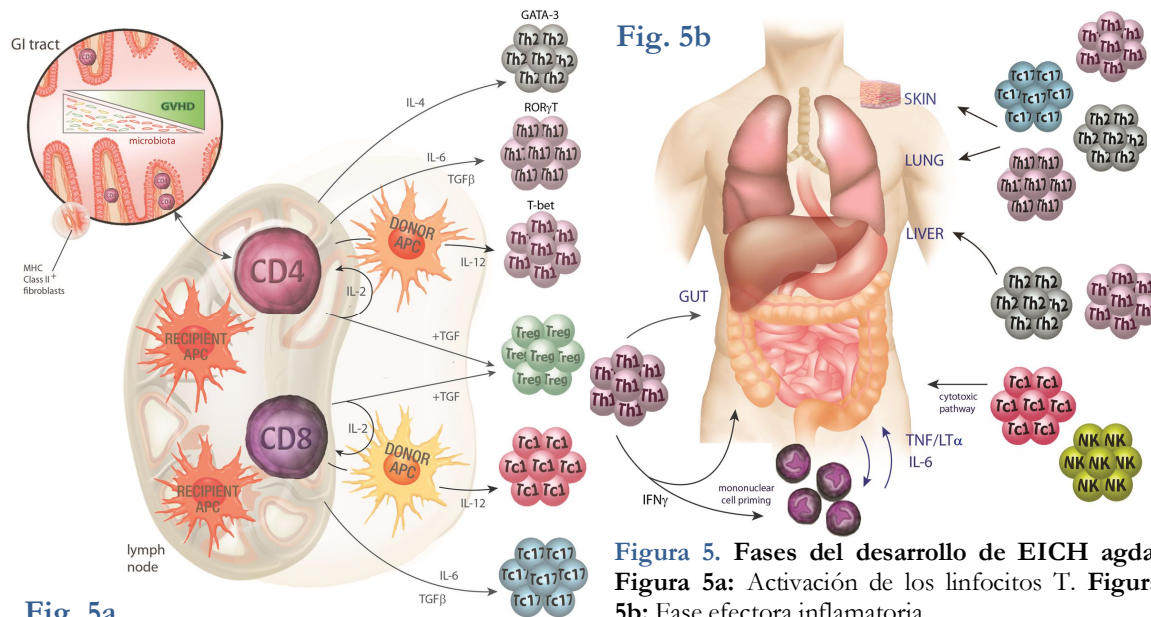


Fig. 5a

Fig. 5b

Figura 5. Fases del desarrollo de EICH agda. Figura 5a: Activación de los linfocitos T. Figura 5b: Fase efectora inflamatoria. Adaptado de Markey KA y cols.<sup>34</sup>

Se reconocen dos formas clínicas de EICH: aguda y crónica.

Clásicamente se ha denominado EICH aguda a la que ocurre en los primeros 100 días post-trasplante, generalmente entre la 2ª y la 6ª semana, siendo la EICH hiperaguda aquella que ocurre en la primera semana tras la infusión y que se caracteriza por fiebre, eritrodermia generalizada, hepatitis, inflamación y síndrome de capilaritis. Sin embargo, es la sintomatología y no el momento de aparición lo que determina el diagnóstico diferencial entre EICH aguda o crónica (tabla 2), de manera que la EICH aguda puede aparecer más allá de los 3 primeros meses, denominándose EICH aguda tardía, e incluso es posible la coexistencia de signos y/o síntomas atribuibles tanto a EICH aguda como crónica, denominándose síndrome de solapamiento<sup>37</sup>.

Tabla 2. Clasificación de la EICH en aguda o crónica

Categoría	Momento de aparición	Síntomas característicos de EICH aguda	Síntomas característicos de EICH crónica
<b>EICH aguda</b>			
Clásica	≤ 100 días postrasplante	Sí	No
Persistente, recurrente o tardía	> 100 días postrasplante	Sí	No
<b>EICH crónica</b>			
Clásica	Sin límite temporal	No	Sí
Mixto o compuesto	Sin límite temporal	Sí	Sí

La EICH aguda se trata de una entidad clínico-patológica caracterizada fundamentalmente por erupción cutánea, alteraciones intestinales y hepáticas<sup>33</sup>. La afectación cutánea suele manifestarse por un eritema maculopapuloso pruriginoso localizado o generalizado que puede cursar en los casos más graves con la formación de bullas o necrosis epidérmica<sup>38</sup>. La afección hepática se traduce clínicamente por ictericia con incremento de bilirrubina conjugada y fosfatasa alcalina, reflejo del daño a nivel de los canalículos biliares. La afectación intestinal es habitualmente la más grave y difícil de tratar; las manifestaciones intestinales incluyen: anorexia, náuseas, vómitos e intolerancia alimentaria (forma proximal), diarrea, dolor abdominal de tipo cólico y, en casos graves, hemorragia e íleo parálítico (forma distal)<sup>33</sup>. La gravedad de la EICH se determina según la extensión de la afectación de estos órganos. En la tabla 3 se exponen los criterios clínicos utilizados internacionalmente para la gradación de la EICH aguda<sup>39</sup>.

Esta complicación aparece con mayor frecuencia y gravedad en los individuos de más edad, en los varones que reciben PH procedentes de donantes mujeres, en los pacientes que reciben regímenes de acondicionamiento MA, etc. Pero el principal factor de riesgo es la disparidad en el sistema HLA entre el donante y el receptor<sup>40-46</sup>.

**Tabla 3. Gradación clínica de la EICH aguda**

Órgano	Grado	Características
<b>Piel</b>	+	Eritema maculopapuloso en < 25% de la superficie corporal
	++	Eritema maculopapuloso en 25 – 50% de la superficie corporal
	+++	Eritrodermia generalizada
	++++	Eritrodermia generalizada con vesículas y descamación
<b>Hígado</b>	+	Bilirrubina entre 2 y 3 mg/dL
	++	Bilirrubina entre 3,1 y 6 mg/dL
	+++	Bilirrubina entre 6,1 y 15 mg/dL
	++++	Bilirrubina > 15 mg/dL
<b>Intestino</b>	+	Diarrea 500 – 1000 mL/día
	++	Diarrea 1000 – 1500 mL/día
	+++	Diarrea > 1500 mL/día
	++++	Dolor abdominal intenso con o sin íleo intestinal

Grado	Piel	Hígado	Intestino	AEG
Grado I	+ / +++	y 0	y 0	0
Grado II	+ / +++ / ++++	y +	y/o +	+
	+++ aislada		o + por biopsia	
Grado III	++ / ++++	y ++ / ++++	y/o ++ / ++++	++
Grado IV	++ / ++++ / +++++	y ++ / ++++ / +++++	y/o ++ / ++++ / +++++	+++

AEG: afección del estado general.

La EICH crónica es la causa de muerte tardía más frecuente después de la recaída de la enfermedad tras el Alo-TPH<sup>47</sup>. La presentación puede ser progresiva (evolucionando de una EICH aguda previa), quiescente (en un paciente con EICH aguda previa completamente resuelta) o *de novo* (sin presentación aguda). Los tejidos principalmente afectados son la piel, el tubo digestivo, el hígado, los ojos el aparato respiratorio, pero podría ocurrir en cualquier otro órgano y comparte características con otras enfermedades autoinmunes (tabla 4) como la esclerodermia, el lupus eritematoso sistémico, la cirrosis biliar primaria, el esprúe, la miastenia o el síndrome de Sjögren. En función de su gravedad se reconocen dos formas clínicas: limitada y extensa (tabla 5).

**Tabla 4. Localización de los síntomas en la EICH crónica**

Localización	Signos y síntomas
Piel	Despigmentación, alopecia, erupción similar al liquen plano, poquilodermia, esclerosis
Uña	Distrofia
Boca	Xerostomía, úlceras, esclerosis, retracciones, lesiones tipo liquen
Ojos	Síndrome de Sicca, conjuntivitis cicatricial
Músculos y articulaciones	Fascitis, miositis, rigidez articular
Genitales femeninos	Esclerosis vaginal, ulceraciones
Tracto gastrointestinal	Anorexia, pérdida de peso, estenosis esofágicas
Hígado	Ictericia, hipertransaminasemia
Pulmón	Alteraciones restrictivas y obstructivas en los test de función pulmonar, bronquiolitis obliterante, derrame pleural
Riñón	Síndrome nefrótico (raro)
Corazón	Pericarditis
Médula ósea	Trombocitopenia, anemia, neutropenia

**Tabla 5. Gradación clásica de la EICH crónica**

**A.- EICH crónica limitada: (1 y/o 2)**

- Afectación cutánea localizada (< 50% de la superficie corporal) y/o
- Afectación hepática limitada (alteración de la función hepática con bilirrubina total < 3 mg/dL)

**B.- EICH crónica extensa:**

- Afectación cutánea extensa ( $\geq$  50% de la superficie corporal), o
- Afectación cutánea y/o hepática limitada asociado a la presencia de  $\geq$  1 de los siguientes criterios
  - Biopsia hepática con histología compatible con EICH crónica (hepatitis crónica agresiva, puentes de necrosis, cirrosis hepática) con bilirrubina  $\geq$  3 mg/dL
  - Test de Schirmer positivo (< 5 mm)
  - Biopsia de mucosa oral o glándula salivar con histología diagnóstica de EICH crónica
  - Alteración pulmonar compatible con bronquiolitis obliterante sin evidencia de causa viral en el estudio histológico
  - Afectación intestinal: malabsorción y/o pérdida de peso > 15% debido a anorexia sin causa evidente excepto la presencia de EICH crónica

### **1.3.2. Fallo de injerto**

El fracaso del injerto todavía representa una causa importante de morbilidad y mortalidad tras el Alo-TPH. Ocurre cuando las células del sistema inmune del receptor que sobreviven al acondicionamiento son capaces de eliminar a las células del donante. Es poco habitual tras un Alo-TPH con un acondicionamiento MA, pero se ha observado una mayor incidencia tras Alo-TPH con AIR y cuando la fuente de CPH es la SCU. Otros factores de riesgo incluyen el grado de incompatibilidad entre el donante y el receptor, una baja celularidad de células CD34+ infundida, y la depleción de células T del producto del donante. Los pacientes que presentan un fallo de injerto podrían volver a recibir un segundo trasplante a partir de otro donante o del mismo donante (si no hay evidencia de fracaso del injerto mediado inmunológicamente) tras un acondicionamiento con inmunosupresores, para favorecer el implante evitando la elevada toxicidad del segundo trasplante, pero la mortalidad secundaria a la neutropenia prolongada es significativa<sup>31,48-50</sup>.

### **1.3.3. Infecciones**

Tras el injerto de las CPH del donante, éstas reconstituirán el sistema inmune del receptor. Habitualmente es un proceso rápido tras el TAPH, pero es más prolongado tras el Alo-TPH y podría verse retrasado en aquellos pacientes que desarrollen EICH y requieran un tratamiento inmunosupresor adicional. Durante el periodo inicial del trasplante, debido a la neutropenia, los pacientes presentan mayor riesgo de infecciones bacterianas, fúngicas y por virus respiratorios. Tras el injerto, en el Alo-TPH, los pacientes presentan riesgo de infecciones víricas, en particular de reactivación de virus de la familia herpes como el citomegalovirus. Las complicaciones infecciosas tardías se ven principalmente tras el Alo-TPH, especialmente debido a la EICH crónica<sup>31</sup>. Se han publicado recientemente guías de consenso internacional para el manejo de las complicaciones infecciosas post-trasplante<sup>51</sup>.

### **1.3.4. Toxicidad relacionada con el régimen de acondicionamiento**

Numerosas complicaciones precoces y tardías están relacionadas con el régimen de acondicionamiento<sup>52</sup>. Entre ellas estarían incluidas neumonitis<sup>53-55</sup>, el síndrome de obstrucción sinusoidal (o enfermedad veno-oclusiva hepática)<sup>56-60</sup>, la cistitis hemorrágica<sup>61</sup>, alteraciones del crecimiento y anomalías endocrinológicas<sup>31</sup>.

### **1.3.5. Segundas neoplasias**

Los receptores de un TPH tienen entre 2 y 7 veces más riesgo de desarrollar segundas neoplasias, siendo las más frecuentes los síndromes linfoproliferativos post-trasplante relacionados con el virus Epstein-Barr, síndromes mielodisplásicos y leucemia aguda mieloblástica relacionados con el tratamiento previo, y diversos tumores de órgano sólido<sup>62,63</sup>.

### **1.3.6. Recaída**

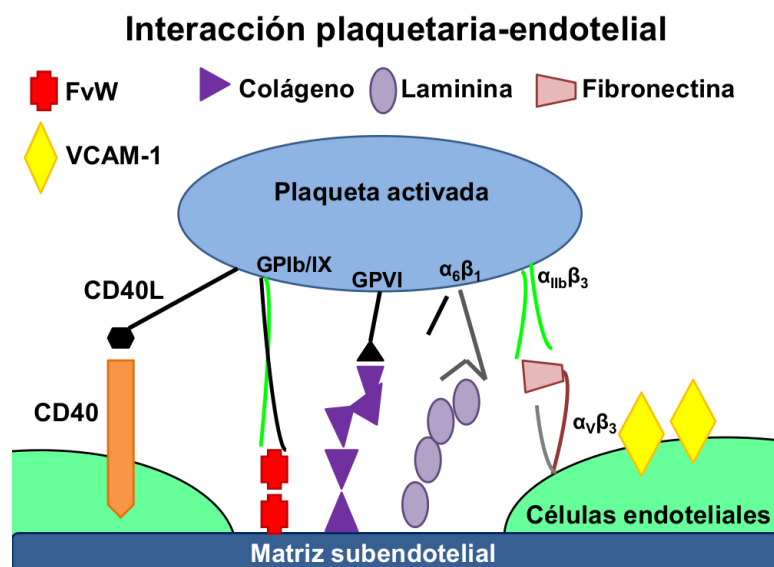
Las recaídas continúan siendo una de las principales causas del fracaso del trasplante por neoplasias hematológicas, y las opciones terapéuticas actuales siguen siendo inadecuadas<sup>64</sup>. El manejo habitualmente utilizado es la supresión del tratamiento inmunosupresor, la infusión de linfocitos del donante, la administración de quimioterapia, y la realización de un segundo TPH. La quimioterapia podría inducir algunas respuestas, pero raramente se consigue el control de la enfermedad a largo plazo. Cada vez hay mayor interés en el uso de la inmunoterapia para tratar las recaídas. La infusión de linfocitos del donante puede conseguir respuestas clínicas significativas en pacientes con leucemia mieloide crónica en recaída, pero las respuestas son menos frecuentes en otras neoplasias hematológicas<sup>65</sup>. Las investigaciones actuales están tratando de utilizar las dianas terapéuticas que ofrecen antígenos menores expresados en las células hematopoyéticas o antígenos específicos de línea, como el tumor de Wilms 1 (WT1), el antígeno principalmente expresado en melanoma (PRAME), o la proteinasa 3<sup>66</sup>. Otros tratamientos basados en la inmunoterapia que están en investigación incluyen la administración de vacunas anti-tumor, células NK, o efectores inmunes genéticamente modificados con receptores de antígenos de membrana como el CD19 o el CD30<sup>67</sup>.

## 2. INTRODUCCIÓN A LAS ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA EN EL ALO-TPH

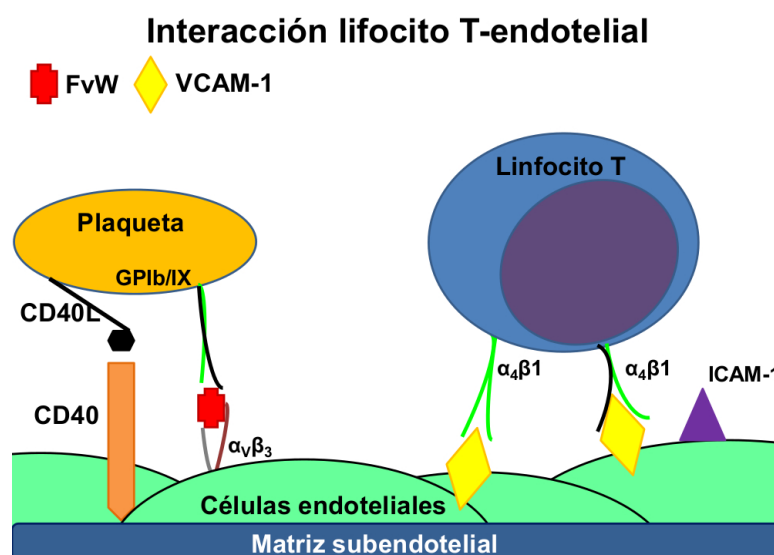
A lo largo del procedimiento de un Alo-TPH se pueden producir cambios en la hemostasia<sup>68</sup>. En la fase precoz del trasplante, se producen citopenias prolongadas como consecuencia del acondicionamiento MA, las cuales predisponen al sangrado. Sin embargo, de manera simultánea, se producen una serie de efectos que favorecen las complicaciones trombóticas<sup>68</sup>. La presencia de enfermedad activa en el momento del trasplante se ha reconocido como una posible causa de trombosis. Además, los regímenes de acondicionamiento MA, con o sin ICT, pueden producir un daño endotelial al convertir las células endoteliales en una superficie procoagulante<sup>68-70</sup>. Los tratamientos inmunosupresores con ciclosporina u otros inhibidores de la calcineurina también pueden estimular las células endoteliales a la liberación de Factor de von Willebrand (FvW) y a la expresión de moléculas de adhesión en su superficie, promoviendo, así, la activación de los mecanismos hemostáticos<sup>68</sup>. Las infecciones bacterianas y fúngicas graves, las cuales son complicaciones frecuentes tras el Alo-TPH, inducen reacciones en su fase aguda que se traducen en un estado protrombótico. Otras complicaciones más extendidas como la EICH aguda o la microangiopatía trombótica que afectan a múltiples órganos también se han asociado con un daño endotelial y/o con cambios en varias proteínas de la coagulación y la fibrinólisis, lo que podría favorecer la aparición de eventos tromboembólicos. Por tanto, todos estos cambios pueden contribuir al desarrollo de complicaciones trombóticas<sup>68</sup>.

Con el aumento de largos supervivientes tras el Alo-TPH, se han obtenido nuevos conocimientos en relación con los eventos vasculares arteriales<sup>71,72</sup>. La EICH crónica podría activar las células endoteliales dando lugar a la liberación de factores procoagulantes y moléculas de adhesión en la superficie<sup>73</sup>. Un modelo que postula los posibles mecanismos en este proceso se muestra en las figuras 6 y 7. Diversas citoquinas, la irradiación y los efectos tóxicos de la quimioterapia del acondicionamiento pueden dañar las células endoteliales y causar lesiones donde las plaquetas se adhieran mediante interacción entre ligando y receptor. La unión de ciertos ligandos estimula la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales, las cuales atraen y unen linfocitos T citotóxicos. Éstos pueden causar más daño, y por tanto, perpetuar los efectos de la EICH en el endotelio<sup>68</sup>.





**Figura 6.** Como resultado de la hipoxia, la irradiación, la liberación de citoquinas y el acondicionamiento, daría lugar a la estimulación del endotelio o a un daño endotelial. En este contexto, las plaquetas se adhieren al lugar de la lesión. En este caso, la unión CD40L/CD40 podría regular la expresión de moléculas en la superficie endotelial, como VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) y CD62P (P-selectina), las cuales pueden unirse a las células mononucleadas efectoras y a los neutrófilos. Adaptado de Tsakiris y cols.<sup>68</sup>



**Figura 7.** Los linfocitos T efectoras expresan las integrinas  $\alpha_4\beta_1$  o  $\alpha_4\beta_7$ , las cuales son ligandos de VCAM-1, por lo que son atraídas al lugar de la lesión y se adhieren al endotelio, perpetuando un bucle que puede causar mayor daño endotelial. Adaptado de Tsakiris y cols.<sup>68</sup>

Datos de estudios retrospectivos sugieren que los supervivientes a largo plazo de un Alo-TPH presentan mayor riesgo de desarrollar y sufrir más eventos arteriales vasculares en comparación con la población general<sup>71,72</sup>. Este riesgo es particularmente elevado si coexisten factores de riesgo cardiovascular, como diabetes, hipertensión arterial o dislipemia.

## 2.1. EVENTOS TROMBOEMBÓLICOS VENOSOS

### 2.1.1. Incidencia

Los primeros en llamar la atención sobre las alteraciones de la hemostasia que suceden durante el Alo-TPH fueron Pihusch y cols., quienes evaluaron de manera retrospectiva la incidencia, gravedad, principales factores de riesgo y la distribución en el

tiempo de los eventos tromboticos (venosos y de pequeño vaso) y hemorrágicos en los 401 pacientes que recibieron un TPH entre el 1 de enero de 1990 y el 31 de diciembre de 1996 en su centro; entre el 1 de enero de 1979 y el 31 de diciembre de 1989 se incluyeron los 46 pacientes con historia completa disponible<sup>74</sup>. Trescientos sesenta y cuatro de los 447 pacientes incluidos recibieron un Alo-TPH y 83 un TAPH. La incidencia global de eventos tromboembólicos venosos (EDEV) fue del 8,9%: 18 pacientes (4,1%) desarrollaron una trombosis relacionada con un catéter venoso central (CVC) y 22 desarrollaron una trombosis venosa profunda (TVP) y/o un tromboembolismo pulmonar (TEP) (4,9%). Mientras que no hubo diferencias en la incidencia de trombosis relacionada con CVC en comparación con los pacientes que recibieron un TAPH, la incidencia de EDEV no relacionados con CVC (TVP, TEP) fue significativamente superior en los pacientes que recibieron un Alo-TPH (5,8% tras Alo-TPH en comparación con 1,2% tras TAPH), con un riesgo relativo (RR) de 4,3 (0,9–29,1)<sup>74</sup>. Hay que destacar que todos los pacientes recibieron una infusión i.v. de heparina no fraccionada a la dosis de 100 UI/kg/día hasta el alta, como profilaxis de enfermedad venooclusiva hepática. Esta medida farmacológica no se usa de manera rutinaria en la mayoría de los centros y podría influenciar tanto la incidencia de EDEV como de complicaciones hemorrágicas. De hecho, 168 pacientes (37,6%) sufrieron un episodio grave de sangrado y 13 pacientes (2,2%) murieron a consecuencia del sangrado<sup>74</sup>.

Los siguientes estudios descriptivos de EDEV en el contexto del TPH (Alo-TPH y TAPH) no se publicaron hasta el año 2008<sup>75,76</sup>.

Gerber y cols. estudiaron de manera retrospectiva los datos de todos los pacientes que ingresaron en su centro para recibir un TPH desde el 1 de julio de 1993 hasta el 30 de junio de 2005. Excluyeron aquellos pacientes que recibieron el TPH en un régimen ambulatorio, así como aquellos que estaban recibiendo tratamiento anticoagulante en el momento del ingreso para el TPH, de tal modo que fueron incluidos 1514 pacientes (928 recibieron un TAPH y 586 un Alo-TPH). Es importante señalar, que a diferencia del estudio inicial de Pihusch, ningún paciente recibió profilaxis antitrombótica farmacológica o mediante medidas mecánicas. Durante los primeros 180 días del TPH, 70 pacientes (4,6%; I.C. 95%: 3,9%-6,2%) desarrollaron un EDEV: 55 trombosis relacionadas con un CVC (3,6%; I.C. 95%: 2,7%-4,7%), 11 TVP no relacionadas con CVC (0,7%; I.C. 95%: 0,4%-1,3%) y 9 TEP (0,6%; I.C. 95%: 0,2%-1,0%), sin observar diferencias significativas en la incidencia de EDEV en función del tipo de TPH (TAPH vs. Alo-TPH)<sup>75</sup>; sin embargo, no describen la incidencia de trombosis no relacionada con CVC (TVP, TEP) en función del

tipo de TPH, lo cual es importante, ya que posiblemente la incidencia en Alo-TPH sea superior al TAPH; a esto hay que sumar el corto seguimiento, limitado a sólo 180 días. En este estudio, de nuevo se vuelve a reflejar que la trombocitopenia sólo protege parcialmente frente a los ETEV, ya que el 34% de los pacientes desarrollaron un ETEV a pesar de tener una cifra de plaquetas inferior a  $50 \times 10^9/L$ , e incluso el 13% desarrolló un ETEV con una cifra de plaquetas inferior a  $20 \times 10^9/L$ .

Hay que tener en cuenta que la hospitalización es un factor de riesgo importante para el desarrollo de ETEV en los pacientes con cáncer<sup>77</sup>, y este riesgo aumenta a medida que se prolonga el periodo de hospitalización<sup>78</sup>. Por este motivo, Gonsalves y cols., aprovechando que su centro disponía de un programa de TPH en régimen ambulatorio, publicaron los resultados de un estudio también retrospectivo en el que incluyeron 589 pacientes que recibieron un TPH (382 TAPH y 207 Alo-TPH) entre los años 2000 y 2005 de manera ambulatoria en su centro<sup>76</sup>. Diez de los 207 receptores de un Alo-TPH presentaron algún ETEV (4.8%; I.C. 95% 2,6–8,7). Cinco de los 207 receptores de un Alo-TPH presentaron una tromboembolia relacionada con el catéter (2,4%; I.C. 95% 1,0–5,5), sin diferencias con respecto a los pacientes que habían recibido un TAPH (2,6%; I.C. 95% 1,4–4,8), concluyendo los autores que no observaron diferencias con respecto a los estudios previos<sup>74</sup>. Sin embargo, 5 pacientes (2,4%; I.C. 95% 1,0–5,5) en el grupo de Alo-TPH fueron diagnosticados de un ETEV no relacionado con CVC (1 TVP, 4 TEP), en comparación con sólo 2 (2 TVP) en el grupo de TAPH (0,5%; I.C. 95% 0,1–1,9%;  $P=0,043$ ). La incidencia de TEP fue superior en los pacientes que recibieron un Alo-TPH (1,93%) que en los que recibieron un TAPH (0%) ( $P=0,01$ )<sup>76</sup>. Esta incidencia de ETEV (TVP, TEP) fue similar, e incluso inferior, a la de los estudios previos<sup>74,75</sup>, de lo que se deduce que el modelo de TPH en régimen ambulatorio podría disminuir la incidencia global de ETEV no relacionados con CVC tras el TPH. Habría que tener en cuenta que, en este estudio, la mayoría de los pacientes que recibieron un Alo-TPH (79,7%), recibieron 20 mg/día de enoxaparina subcutánea como profilaxis de enfermedad veno-oclusiva hepática, lo cual podría ofrecer cierto grado de protección frente al desarrollo de ETEV. Sin embargo, la dosis de enoxaparina utilizada ha sido estudiada en comparación con placebo en pacientes graves, sin demostrar ningún beneficio en la prevención de ETEV<sup>79</sup>.

En resumen, hasta ahora, toda la información que disponemos proviene de estudios retrospectivos unicéntricos, en los que se incluyen todos los pacientes que han recibido un TPH (ya sea TAPH o Alo-TPH), con un periodo de inclusión y de seguimiento muy amplio

y variable, lo que hay que añadir el uso de profilaxis antitrombótica; todo ello hace difícil la comparación entre los distintos estudios.

Teniendo todo esto en cuenta, la incidencia global de ETEV durante el Alo-TPH varía entre el 4,8% y el 8,9% (tabla 6), sin observar diferencias entre aquellos pacientes que reciben el Alo-TPH ingresados o en régimen ambulatorio. Según la localización, observamos que la incidencia de trombosis relacionada con CVC se sitúa entre el 2,4% y el 4,1%, sin observar diferencias significativas con respecto a aquellos pacientes que reciben un TAPH, así como tampoco se observaron diferencias entre el régimen ingresado o ambulatorio. Finalmente, la incidencia de TVP y TEP varía entre el 1,3% y el 5,8%; superior que en el contexto de un TAPH.

### **2.1.2. Tiempo de aparición del ETEV tras TPH**

En el estudio inicial de Pihusch, 22 de los 36 ETEV sucedieron en los primeros 100 días del Alo-TPH, siendo especialmente relevante en el desarrollo de trombosis relacionada con el CVC, ya que 13 de las 15 trombosis relacionadas con un CVC se diagnosticaron durante ese periodo. De este modo, la mediana de tiempo de aparición de trombosis relacionada con CVC en toda la serie (Alo-TPH + TAPH) fue en el día +15 post-TPH (rango, -1 al +257), mientras que del resto de ETEV (TVP, TEP) fue en el día +180 (rango, -4 al 998)<sup>74</sup>.

Basándose en estos datos, Gerber y cols. limitaron el tiempo de estudio a sólo 6 meses (hasta el día +180). La mediana de tiempo de aparición de ETEV fue de 35 días (rango intercuartílico: 16-64 días)<sup>75</sup>. Al igual que Pihusch, observaron que las trombosis relacionadas con CVC sucedían en el periodo inicial del TPH (mediana de 33 días, rango intercuartílico: 12-53 días), mientras que las trombosis no relacionadas con CVC ocurrían de una manera más tardía: mediana de 63 días en el caso de las TVP (rango intercuartílico: 28-116 días) y los TEP (mediana de 66 días, rango intercuartílico: 38-78 días).

En el estudio de Gonsalves y cols., con un seguimiento de 1 año, la mediana de tiempo en el diagnóstico de ETEV no relacionados con CVC fue de 153 días (rango, 71 – 219) en el grupo de Alo-TPH. Hay que tener en cuenta que 2 de los 5 pacientes que presentaron un evento trombótico, éste ocurrió tras el día +180. Esto es importante, ya que indica que los ETEV no relacionados con CVC son una complicación tardía del Alo-TPH, por lo que precisan de estudios con largo seguimiento. En este estudio no se especifica el tiempo del diagnóstico de los ETEV relacionados con CVC.

Por tanto, podemos resumir, que mientras que la trombosis relacionada con un CVC sucede en el periodo inicial del Alo-TPH, habitualmente durante el primer mes del Alo-TPH, las TVP no relacionadas con CVC y los TEP suceden en un periodo más tardío: con inicio a partir del primer mes, y una mediana aproximadamente a los 6 meses del Alo-TPH, aunque esto último posiblemente esté influenciado por el bajo periodo de seguimiento de los estudios realizados.

### **2.1.3. Factores de riesgo de ETEV tras TPH**

Aunque el estudio de Pihusch y cols. no fue diseñado para analizar factores de riesgo, observaron que aquellos pacientes que desarrollaron EICH crónica presentaban una mayor incidencia de ETEV no relacionados con CVC (TVP y TEP) que aquellos pacientes que no desarrollaron EICH crónica, 6,9% versus 0,9%, con un RR de 13,1 (1,7 – 99)<sup>74</sup>. Además, el 46,6% de los pacientes que desarrollaron un ETEV estaban recibiendo tratamiento con corticoides y el 67,4% ciclosporina (CsA)<sup>74</sup>.

Otro aspecto a tener muy en cuenta es que la trombocitopenia no supuso un elemento protector frente a los ETEV. En este sentido, el 44,2% de los pacientes con un ETEV tenían una cifra de plaquetas inferior a  $50 \times 10^9/L$ <sup>74</sup>.

Posteriormente, Pihusch y cols. estudiaron, de manera prospectiva, en 89 receptores de un Alo-TPH y en sus donantes, la presencia de trombofilia hereditaria y lo correlacionaron con las complicaciones de la hemostasia tras el trasplante<sup>80</sup>. Estos datos fueron comparados con los de 128 sujetos sanos que sirvieron de grupo control. Las alteraciones estudiadas fueron: la mutación G1691A del factor V, la mutación G20210A de la protrombina, la mutación C677T de la 5,10-metilenetetrahidrofolato-reductasa (MTHFR), el polimorfismo PI(a1/a2) de la glicoproteína IIIa, el polimorfismo 455G/A de la cadena beta del fibrinógeno, el polimorfismo 675 4G/5G del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), y el polimorfismo del intrón 16 I/D de la enzima convertidora de la angiotensina. Solamente, el polimorfismo 4G/4G del PAI-1 se relacionó con un aumento de 5,7 veces el riesgo de desarrollar trombosis relacionada con CVC tras el TPH (32,2% vs. 71,4%;  $P < 0,05$ ). Las mutaciones/polimorfismos relacionados con trombofilia en los donantes no influyeron en el desarrollo de complicaciones en sus correspondientes receptores. Por tanto, parece que la trombofilia hereditaria no predispone al desarrollo de ETEV en el contexto del TPH<sup>80</sup>. Por el contrario, se diagnosticaron 4 ETEV (incluyendo 2 casos de trombosis relacionada con CVC) en 31 pacientes con EICH crónico, en comparación con sólo 1 ETEV en 58 pacientes

sin EICH crónico (12,9% vs. 1,7%,  $P < 0,05$ ), confirmando la posible implicación entre el EICH crónico y los ETEV tras el Alo-TPH<sup>80</sup>.

Al igual que en los estudios previos, Gerber y cols. observaron que la EICH se asociaba de manera significativa con un mayor riesgo de ETEV (O.R.: 2,4; I.C. 95%: 1,4 – 4,0), sin distinguir entre EICH agudo o crónico, ni la gravedad del mismo<sup>75</sup>. Pero por otro lado hay que tener en cuenta que, tanto en este como en otros estudios, la EICH se asoció a mayor riesgo de sangrado<sup>74,75,81,82</sup>. Además de la EICH, Gerber y cols. observaron que aquellos pacientes que ya habían presentado un ETEV previo también tenían más riesgo de ETEV durante el TPH (O.R.: 2,9; I.C. 95%: 1,3 – 6,6)<sup>75</sup>. Esto último es un factor de riesgo previamente conocido en el desarrollo de ETEV<sup>83,84</sup>.

En el estudio de Gonsalves y cols., también se apoya la posibilidad de que la EICH aguda sea un importante factor que contribuya al desarrollo de ETEV<sup>76</sup>. Tres de los 5 ETEV no relacionados con CVC ocurrieron en el grupo de 75 pacientes (4,0%) que desarrollaron EICH aguda de cualquier grado. Ningún ETEV sucedió antes del día 100 entre los 132 pacientes que no desarrollaron EICH aguda (0%,  $P = 0,02$ ); sin embargo, se diagnosticaron otros 2 ETEV posteriormente, en los días +219 y +274, en 2 pacientes que habían desarrollado EICH crónico tras el día +100. Los propios autores concluyen que debido a que el periodo de seguimiento se limitó a sólo 1 año, es necesario un análisis posterior que evalúe la ocurrencia de ETEV en el contexto del EICH crónico. Además, 2 pacientes habían presentado un ETEV previo. Por lo tanto, no se pudo realizar ningún análisis de regresión logística para identificar los factores de riesgo, debido a que los eventos fueron muy pocos para poder sacar conclusiones.

En resumen, aunque ninguno de los estudios fue diseñado para analizar los factores de riesgo de ETEV en el contexto del Alo-TPH, parece ser que los pacientes que desarrollan EICH tienen una mayor incidencia de ETEV, sin embargo quedan muchos puntos por resolver: los distintos estudios no aclaran si son los pacientes que desarrollan EICH aguda, crónica o ambas, aquellos con mayor riesgo de ETEV, así como tampoco hacen distinción en la gravedad del EICH. Otro factor que podría predisponer al desarrollo de ETEV es la presencia de un ETEV previo, aunque tampoco está claro. Por el contrario, parece que la trombofilia hereditaria no tiene ningún papel en el contexto del Alo-TPH.

#### **2.1.4. Fisiopatología de la hemostasia tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos**

Como hemos visto, la incidencia de ETEV relacionados con el CVC es similar en los pacientes que reciben un TAPH o un Alo-TPH<sup>74,76</sup>, lo que indica la importancia de problemas vasculares locales como posible factor etiopatogénico.

Por el contrario, los ETEV no relacionados con el CVC (IVP, TEP) ocurrieron en un periodo posterior y, además, la incidencia fue significativamente diferente según el tipo de TPH, siendo más elevada en el Alo-TPH<sup>74,76</sup>. Además, la incidencia de TVP/TEP en el Alo-TPH fue mayor en los pacientes que desarrollaron EICH crónico<sup>74,76,80</sup>, lo que enfatiza el impacto de los efectos inmunológicos en la patogénesis de los ETEV en el Alo-TPH. Por tanto, el daño endotelial producido por la EICH crónica<sup>85</sup> podría tener potencial trombogénico, que se vería potenciado por la liberación de micropartículas endoteliales. De hecho, se postula que el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (esencial en la patogénesis del EICH e importante predictor de complicaciones graves post Alo-TPH)<sup>86</sup> podría ser capaz de modular la función hemostática endotelial<sup>87</sup>, aumentar la producción de PAI-1<sup>88</sup> y de factor tisular, y por tanto, podría favorecer los ETEV.

En cuanto al posible papel de la trombofilia en el Alo-TPH, hasta el momento los distintos estudios realizados no han conseguido demostrar su asociación con el desarrollo de ETEV en este contexto<sup>80,89</sup>.

Otros factores de riesgo todavía no reconocidos podrían contribuir al desarrollo de ETEV.

#### **2.1.5. Tratamiento de los ETEV tras TPH**

En cuanto al tratamiento de los ETEV en el Alo-TPH, revisiones recientes<sup>68</sup> sugieren que se deberían seguir las mismas recomendaciones que en pacientes no trasplantados<sup>90</sup>. No obstante, sugieren que la elección del tratamiento anticoagulante (antagonistas de la vitamina K o heparina de bajo peso molecular – HBPM –) podría depender de la presencia y gravedad del EICH crónico<sup>68</sup>, aunque no hay evidencia suficiente para poder realizar esta recomendación. Por analogía a los pacientes con cáncer activo, la HBPM podría ser más beneficiosa que los antagonistas de la vitamina K<sup>91</sup>. Además, los fármacos inmunosupresores utilizados para la profilaxis y el tratamiento de la EICH presentan frecuentes interacciones con los antagonistas de la vitamina K.

En ninguno de los dos estudios iniciales que describieron la incidencia de ETEV se describe el tratamiento anticoagulante que recibieron estos pacientes (Tabla 6)<sup>74,80,89,92,93</sup>.

Llama la atención que en el estudio de Gerber y cols., aunque tampoco describen el tratamiento anticoagulante administrado, observaron que 23 de los 62 pacientes (37%) en los que se inició un tratamiento anticoagulante por un primer episodio de ETEV durante los primeros 180 días del TPH, presentaron alguna complicación hemorrágica, y en 3 (5%) la hemorragia fue fatal<sup>75</sup>.

Por el contrario, en el estudio de Gonsalves y cols., ninguno de los 5 pacientes diagnosticados de un ETEV presentó ninguna complicación hemorrágica significativa, a pesar de que todos recibieron heparina de bajo peso molecular a dosis terapéuticas; uno de los pacientes Alo-TPH se cambió posteriormente a tratamiento anticoagulante oral con warfarina para mantener un INR entre 2 y 3<sup>76</sup>. Hay que señalar que tampoco se describe el tipo de heparina utilizada, la dosis ni el tiempo que la recibieron.

En resumen, sigue sin haber información suficiente en relación al tratamiento anticoagulante de estos pacientes, no disponemos información sobre el fármaco anticoagulante a emplear, la dosis ni el tiempo de duración de la anticoagulación. En cuanto a la toxicidad, hay discrepancias entre los estudios en cuanto al riesgo hemorrágico asociado al uso de fármacos anticoagulantes en este contexto. No debemos olvidar, la posible presencia de factores que aumentan el riesgo hemorrágico en este tipo de pacientes, como son la insuficiencia renal, la trombocitopenia, etc.

### **2.1.6. Impacto pronóstico de los ETEV post-TPH**

Hasta ahora, no hay datos sobre el impacto pronóstico de los pacientes que desarrollan ETEV en la fase precoz del trasplante.

Inicialmente, Pihusch y cols. no observaron diferencias en la supervivencia global (SG) en aquellos pacientes trasplantados (Alo-TPH o TAPH) que desarrollaron un ETEV en comparación con los que no desarrollaron ningún ETEV (SG: 38,2% vs. 46,1% respectivamente)<sup>74</sup>. En el estudio de Gerber, aunque no analizaron la SG de los pacientes que presentaron un ETEV, sí señalan que no hubo ninguna muerte atribuible al ETEV<sup>75</sup>.



Tabla 6. Incidencia de eventos tromboembólicos venosos tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

Autor y año	N	Observaciones	Periodo de estudio	Profilaxis ETEV	Tiempo de seguimiento	N° ETEV (%)	Tipo de ETEV	Factores de riesgo	Tratamiento
Uderzo, 1993 <sup>94</sup>	67	Alo-TPH (≤ 14 años)	ND	ND	ND	3 (4,5%)	3 TEP (no evaluado resto de ETEV)	No estudiado	Uroquinasa 4400 UI/kg/h iv durante 18 horas (N=2), seguido de HNF 500 UI/kg/día iv (N=3)
Chiusolo, 2000 <sup>92</sup>	69	Alo-TPH (N=23) TAPH (N=46)	ND	ND	31 meses (rango, 10-69)	3 (4,3%)	1 CVC, 1 TVP, 1 TEP	No encontrados	ND
Pihusch 2002 <sup>74</sup>	447	Alo-TPH (N=364) TAPH (N=83)	1990 – 1996 (N=401) + 1979 – 1989 (N=46)	HNF 100 UI/Kg/día hasta el alta No profilaxis farmacológica	Desde el día de la infusión de CPH hasta el 1 Junio 2000	40 (8,9%)	18 CVC, 22 ETEV (TVP+TEP)	Alo-TPH (vs TAPH) EICH crónica	ND
De Lima, 2004 <sup>92</sup>	94	Alo-TPH	1995 – 2000	ND	40 meses (rango, 10-64)	1 (11%)	1 TEP	No estudiado	ND
Pihusch, 2004 <sup>80</sup>	89	Alo-TPH	2000 - 2002	HNF 100 UI/Kg/día hasta el alta	402 días (12-934)	12 (13,5%)	7 CVC, 5 ETEV (TVP+TEP)	Polimorfismo 4G/4G del PAI-1 EICH crónica	ND
Maris, 2006 <sup>95</sup>	103	Alo-TPH DNE	2002 – 2003	ND	100 días	3 (2,9%)	3 TVP	No estudiado	ND
Khourri, 2008 <sup>95</sup>	47	Alo-TPH	1999 – 2005	ND	60 meses (rango, 19-94)	1 (2,1)	1 TVP	No estudiado	ND
Gerber, 2008 <sup>75</sup>	1514	Alo-TPH (N=586) TAPH (N=928)	1993 – 2005	No profilaxis farmacológica	180 días	70 (4,6%)	55 TVP de miembro superior, 11 TVP, 9 TEP	EICH ETEVE previo	ND
Gonsalves, 2008 <sup>76</sup>	589	TPH ambulatorio: Alo-TPH (N=207) TAPH (N=382)	2000 – 2005	Enoxaparina 20 mg/día sc comenzando 6±3 días antes de la infusión hasta una media de 22 ± 14 días (mediana 26, rango 1-60)	1 año	10/207 (4,8%)	5 CVC, 1 TVP, 4 TEP	Alo-TPH (vs TAPH) EICH aguda	HBPM a dosis terapéuticas

ETEVE: Eventos tromboembólicos venosos. Alo-TPH: Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. TAPH: Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. ND: No descrito. TVP: Trombosis venosa profunda. TEP: Tromboembolismo pulmonar. HNF: Heparina no fraccionada. CVC: Catéter venoso central. EICH: Enfermedad injerto contra huésped. PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1. DNE: Donante no emparentado. SC: subcutáneo. HBPM: Heparina de bajo peso molecular.

## **2.2. EVENTOS TROMBOEMBÓLICOS ARTERIALES**

### **2.2.1. Trombosis arterial en la fase precoz del trasplante**

De nuevo, son escasos los datos disponibles acerca de la prevalencia de eventos cardiovasculares (infarto de miocardio, ictus, accidente isquémico transitorio, enfermedad arterial oclusiva) en la fase precoz del Alo-TPH, aunque algunos factores capaces de inducir daño endotelial podrían estar involucrados, como el acondicionamiento MA con o sin ICT. Otros factores como la neutropenia prolongada y la trombocitopenia grave podrían actuar de una manera protectora. Casos anecdóticos de tromboembolismo arterial (TEA) se han comunicado en pacientes con enfermedad aterosclerótica previa<sup>68</sup>.

### **2.2.2. Trombosis arterial en la fase tardía del trasplante**

Hasta hace poco, no había datos sobre la prevalencia de eventos vasculares arteriales en la fase tardía del trasplante. Un amplio estudio retrospectivo ha mostrado que los factores de riesgo vascular establecidos, tales como diabetes, hipertensión y dislipemia, son más frecuentes en los supervivientes a largo plazo de un Alo-TPH. La medicación concomitante (corticoides, inmunosupresores), la disfunción gonadal o el daño endotelial prematuro en el contexto de EICH son algunos posibles desencadenantes para su desarrollo. Dos estudios recientes retrospectivos (uno unicéntrico y otro multicéntrico) han mostrado que estos pacientes presentan TEA de una manera prematura, en comparación con la población general de su misma edad y sexo<sup>71,72</sup>.

En un estudio que muestra la experiencia de un centro, se analizaron los datos de 265 Alo-TPH y 145 TAPH<sup>71</sup>. En los años posteriores al TPH, el 6,8% de los pacientes presentaron algún TEA. La mediana de tiempo de aparición fue de 9 años tras el TPH (rango, 2-21 años), y la mediana de edad de los pacientes fue de 49 años. La incidencia acumulada de TEA en esta cohorte fue del 22,1% a los 25 años, la cual es superior a la de los varones de la población general con el mismo rango de edad, cuya incidencia acumulada es del 11% a los 50 años. Estos datos muestran que la enfermedad aterotrombótica aparece significativamente más precoz que la esperada, y es más frecuente en los receptores de un Alo-TPH que de un TAPH. Los factores de riesgo cardiovascular establecidos, como la hipertensión, diabetes y dislipemia, se asociaron de manera significativa con el desarrollo de TEA en el análisis univariante. La edad, ICT y el desarrollo de EICH crónico no mostró asociación con los TEA en esta misma cohorte. Algunas otras observaciones necesitan de

una mayor evaluación. Por ejemplo, la supervivencia global no se vio afectada por el desarrollo de TEA; todos los eventos vasculares arteriales sucedieron en pacientes tratados por neoplasias mieloides (en ningún paciente con neoplasia de origen linfoide). Según estos datos, la aterosclerosis progresa de una manera más rápida tras el Alo-TPH. Así como también aumenta la probabilidad de presentar los factores de riesgo vascular clásicos tras el Alo-TPH. Esto podría ser debido a mecanismos inmunológicos no bien establecidos durante el periodo post-trasplante.

Estos resultados fueron confirmados posteriormente en un estudio multicéntrico<sup>72</sup>. En este estudio retrospectivo, del *European Group for Blood and Marrow Transplantation*, se incluyeron 548 pacientes que recibieron un Alo-TPH entre 1990 y 1995, y que sobrevivieron al menos un año tras el trasplante. Veinte de los 548 pacientes (3,6%) tuvieron algún TEA en al menos un territorio arterial, y la incidencia acumulada del primer episodio de TEA a los 15 años tras el Alo-TPH fue del 6% (I.C. 95%, 3%-10%). La mediana de edad de los pacientes en el momento del evento TEA fue de 54 años (rango, 41 – 70). La mediana de tiempo fue 7 años desde el trasplante (rango, 1 – 13 años). Los pacientes con cualquiera de los factores de riesgo cardiovascular establecidos (tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, índice de masa corporal elevado) tuvieron una mayor incidencia acumulada de TEA tras el Alo-TPH. De hecho, aquellos pacientes con un score cardiovascular de alto riesgo, definido por tener al menos la mitad de los factores de riesgo definidos (hipertensión arterial, diabetes, dislipemia, índice de masa corporal superior a 25 kg/m<sup>2</sup>, inactividad física, tabaquismo) tuvieron una incidencia de TEA del 17%, en comparación con sólo el 4% en los pacientes con un score cardiovascular de bajo riesgo. Los pacientes que habían desarrollado EICH aguda también presentaron una mayor incidencia acumulada de TEA (4%; I.C. 95%, 2-7%), en comparación con aquellos que no desarrollaron EICH aguda (1%; I.C. 95%; 0-4%; P=0,022). No hubo una diferencia estadísticamente significativa en función de si los pacientes habían desarrollado EICH crónica o no o si el régimen de acondicionamiento incluía ICT o no. En el análisis multivariante, aquellos pacientes con más de 30 años en el momento del Alo-TPH (RR: 6,43; I.C. 95%, 1,87–22,6; P=0,003) y un score cardiovascular elevado (RR: 9,81; I.C. 95%, I.C., 3,75–25,66; P<0,001) mantuvieron su asociación con el desarrollo de TEA tras el Alo-TPH<sup>72</sup>.

Finalmente, en cuanto al pronóstico de estos pacientes, no se observó una diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia global entre los pacientes con algún TEA y aquellos que no presentaron TEA (P=0,27)<sup>72</sup>.

## **2.3. HEMORRAGIAS**

### **2.3.1. Incidencia, localización y gravedad de las hemorragias tras el Alo-TPH**

Las complicaciones hemorrágicas tras el Alo-TPH suponen una preocupación importante en la práctica clínica diaria. No fue hasta 1998 cuando Nevo y cols. evaluaron por primera vez la incidencia y el impacto de las complicaciones hemorrágicas post-TPH ocurridas en la fase precoz (hasta el día +100), encontrando que las complicaciones hemorrágicas eran muy frecuentes tras el TPH (más del 80% de los pacientes presentaban alguna complicación hemorrágica) y se asociaban con un aumento de la mortalidad<sup>96</sup>. Desde aquel estudio inicial, se han realizado sólo unos pocos estudios más <sup>74,75,81,82,96,97</sup> (Tabla 7), todos ellos retrospectivos, la mayoría analizando de forma conjunta tanto TAPH como Alo-TPH, lo que dificulta en muchos casos extraer la información relacionada con el Alo-TPH, y con un seguimiento muy variable (desde sólo 100 días hasta 576 días, el de mayor seguimiento). Además, el periodo de estudio fue realizado en las pasadas décadas, lo cual es muy importante, teniendo en cuenta tanto el mayor número de Alo-TPH realizados en los últimos años, como los grandes avances acontecidos en el campo del trasplante (fuentes de PH diferentes a la MO, mayor realización de Alo-TPH DNE, así como diferentes técnicas con acondicionamiento de intensidad reducida, de tal modo que ante la escasez de información disponible, sigue siendo un tema de enorme interés en el momento actual. A esto, hay que tener en cuenta la falta de criterios uniformes a la hora de comunicar los eventos hemorrágicos entre los distintos estudios (Tabla 7).

Los estudios que han analizado la incidencia y el impacto pronóstico del sangrado post-trasplante son escasos. Existe una amplia variación en la incidencia del sangrado tras el Alo-TPH, debido en parte a la dificultad que supone la ausencia de criterios que unifiquen la manera de clasificar el sangrado en los diferentes estudios. Además, los receptores de un Alo-TPH pueden presentar hemorragia en múltiples localizaciones de manera simultánea o, incluso, secuencial. No obstante, en la mayoría de los estudios, se comunica la incidencia de hemorragia por órgano o tejido afecto. Así, la incidencia de hemorragia gastrointestinal varía entre el 5% y 15%<sup>98-100</sup>. La incidencia de cistitis hemorrágica es aún más diversa, entre un 4% y 52%<sup>101-108</sup>. Las temidas hemorragia alveolar difusa y hemorragia intracraneal son también muy variables, entre menos del 1% y el 21%<sup>109-115</sup> y entre el 2,5% y 5%<sup>116-118</sup>, respectivamente.

Teniendo todo esto en cuenta, podemos decir que aproximadamente un tercio de los pacientes que reciben un Alo-TPH presentan alguna complicación hemorrágica clínicamente significativa<sup>74,81,82,96,97</sup>.

Las diferencias en el tiempo de seguimiento de todos estos estudios hacen que haya importantes variaciones en cuanto al momento de aparición de las complicaciones hemorrágicas post-TPH. En cualquier caso, parece haber un primer pico de incidencia de hemorragia post-alotrasplante en las primeras 3 semanas, con una mediana entre el día +10 y el +22<sup>74,81,119</sup>, es decir, durante el periodo de trombocitopenia, disminuyendo posteriormente. De hecho, durante este periodo inicial (hasta el día +30) tras la infusión de PH de MO, la incidencia de sangrado clínicamente significativo fue similar entre los grupos con EICH y sin EICH (incidencia de sangrado: 16,5% vs 15%, respectivamente)<sup>81</sup>. En aquellos que recibieron un Alo-TPH se observó un segundo pico de incidencia en el día +33<sup>74</sup>. De hecho, en aquellos pacientes que no desarrollaron EICH, el 68% de los episodios moderados o graves ocurrieron en la fase precoz (hasta el día +30), frente al 32,3% de los eventos en aquellos que desarrollaron EICH (P=0,005)<sup>81</sup> (Figura 8).

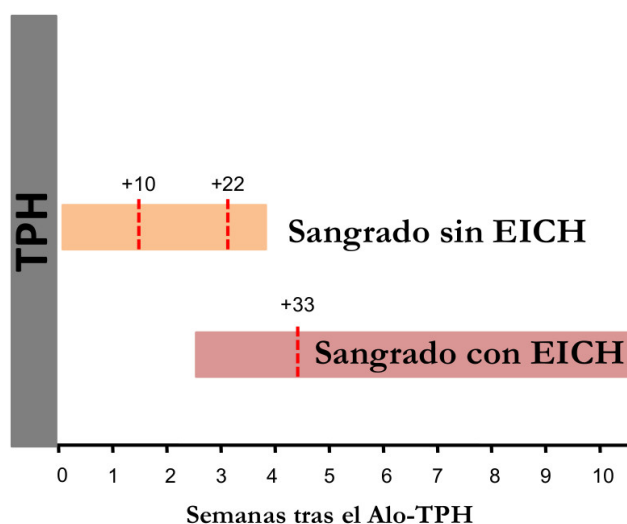


Figura 8. Mediana de aparición del sangrado post-trasplante

Tabla 7. Incidencia de complicaciones hemorrágicas post-trasplante de progenitores hematopoyéticos

Autor y año	N	TAPH incluidos	Período de estudio	Seguimiento	Incidencia global de la serie	Incidencia en Alo-TPH	Definición de sangrado	Transfusión de plaquetas profiláctica	Anticoagulación
Nevo, 1998 <sup>26</sup>	1402	887	01/01/1986		34% <sup>a</sup>	ND	- <u>Menor</u> : No precisa transfusión de CH (equimosis, epistaxis, sangrado cutáneo, vaginal, hematemesis leve, hematuria leve, etc.) durante 4-7 días en una semana.	<20x10 <sup>9</sup> /L <sup>f</sup>	
Nevo, 1999 <sup>81</sup>	463	0	al 30/06/1995		40,2%	40,2% <sup>b</sup>	- <u>Moderado</u> : No precisa transfusión de CH pero dura > 7 días, o precisa la transfusión de ≥ 1 CH durante 1-2 días en una semana.	<20x10 <sup>9</sup> /L <sup>f</sup>	ND
	224	63 <sup>c</sup>	01/01/1997	Día +100	28,2%	31,7% <sup>d</sup>	- <u>Grave</u> : Precisaba la transfusión de ≥ 1 CH durante ≥ 3 días en una semana, o se trata de una hemorragia con compromiso vital (produce un compromiso hemodinámico o afecta a un órgano vital – hemorragia intracraneal, pericárdica, y hemorragia pulmonar difusa-).		
Nevo, 2007 <sup>92</sup>	256	16 <sup>c</sup>	30/11/1998		22,7%	26,3% <sup>d</sup>		<10x10 <sup>9</sup> /L <sup>f</sup>	
			01/03/1999						
			al 30/04/2001						
Pihusch, 2002 <sup>24</sup>	447	83 <sup>c</sup>	01/01/1979	ND	27,1% <sup>e</sup>	41,5% <sup>e</sup>	- <u>Leve</u> : No precisa la transfusión de > 1 CP al día. - <u>Grave</u> : Precisa la transfusión de > 1 CP al día, ≥ 2 CH, necesita intervención quirúrgica para su control o se trata del comienzo de un shock hemorrágico.	<20 x10 <sup>9</sup> /L	HNF 100 UI/Kg IV hasta el alta
			al 31/12/1996				- <u>Letal</u> : Si se produce la muerte en la primera semana del comienzo del evento.		
Bacigalupo, 2003 <sup>82</sup>	807	0	1991	576 días (10 – 4777)	32%	32%		ND	ND
			a 2001						
Gerber, 2008 <sup>75</sup>	1514	928	01/07/1993	Día +180	15,2%	ND	Aquellos eventos hemorrágicos clínicamente relevantes, es decir, que requirieron intervención clínica específica, como por ejemplo: hospitalización, transfusión de hemoderivados, endoscopia, broncoscopia, intubación, o irrigación vesical continua.	< 20 x10 <sup>9</sup> /L	NO
			al 30/06/2005				No incluidos aquellos eventos hemorrágicos que no requerían ningún tipo de intervención (la mayoría, sangrados mucocutáneos).		

<sup>a</sup> Incidencia anual (estimada entre 1986 y 1994) entre el 31,8% y el 42,4% (sin diferencias significativas entre los distintos años). <sup>b</sup> Alo-TPH de MO de DE. <sup>c</sup> TAPH + Alo-TPH singénico. <sup>d</sup> Complicaciones hemorrágicas moderadas o graves tras Alo-TPH de MO de DE. <sup>e</sup> Complicaciones hemorrágicas graves. <sup>f</sup> Aquellos pacientes con algún evento hemorrágico, recibieron concentrados de plaquetas para mantener cifras superiores a 30 x10<sup>9</sup>/L, 50 x10<sup>9</sup>/L o incluso superiores, según la gravedad de la hemorragia. Abreviaturas: TAPH: Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Alo-TPH: Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. MO: Médula ósea. DE: Donante Emparentado. ND: No disponible. HNF: Heparina no fraccionada IV: Intravenoso/a.

La localización más frecuente fue la cutáneo-mucosa, aunque la gran mayoría de estos eventos fueron leves<sup>74</sup>. Dado que la mayoría de los estudios sólo evaluaron aquél sangrado clínicamente relevante, la localización más frecuente fue la cistitis hemorrágica (en torno al 50% de los eventos hemorrágicos) seguido del sangrado digestivo (24%)<sup>82</sup>. Finalmente, si tenemos en cuenta sólo aquél sangrado moderado o grave, la localización más frecuente fue la digestiva, ocurriendo entre el 40 – 65% de todas las hemorragias moderadas o graves<sup>75,81</sup>.

Entre el 60 – 80% de los pacientes presentaron el evento hemorrágico en una única localización. No obstante, un número importante de pacientes presentan hemorragias en dos localizaciones simultáneamente, entre el 12,5 – 17,5%, o incluso, en 3 o más localizaciones, en torno al 6%<sup>82,96</sup>

En cuanto a la gravedad de la hemorragia, la mayoría (77,5%) de los eventos hemorrágicos son leves<sup>74</sup>, pero hasta un tercio de los receptores de un Alo-TPH (31 – 41,5%) presentan algún evento hemorrágico moderado o grave<sup>74,81</sup>, y llega a ser la causa de muerte en el 3,6 – 5% de los trasplantes<sup>74,75,96</sup>.

### **2.3.2. Factores de riesgo relacionados con la aparición de una hemorragia tras Alo-TPH**

Son varios los factores de riesgo que se han relacionado con la hemorragia post-alotrasplante: a) tipo de donante de PH; b) trombocitopenia; c) trombopatía; d) enfermedad injerto contra huésped; e) anticoagulación; f) otros.

#### a) Tipo de donante de PH:

En comparación con el TAPH (18,5%), los eventos hemorrágicos moderados o graves en los primeros 100 días post-trasplante son más frecuentes en el Alo-TPH de DE (31%,  $P < 0.001$ ), y, en especial, en el Alo-TPH de DNE (62,5%,  $P < 0,0001$ ). Por el contrario, no hay diferencias en la incidencia de eventos hemorrágicos menores entre los tres tipos de trasplante (en torno al 9-12%)<sup>96</sup>. Los autores sugirieron que esta diferencia en las hemorragias clínicamente significativas podría ser debida al desarrollo de EICH y complicaciones infecciosas del Alo-TPH<sup>81</sup>. En este mismo sentido, Bacigalupo y cols. confirman una mayor incidencia de sangrado entre aquellos pacientes que recibían un Alo-TPH de donante HLA no idéntico (45% de eventos hemorrágicos), en comparación con el 23% de aquellos Alo-TPH de donante HLA-idéntico ( $P = 0,0001$ ), lo cual podría explicarse por la mayor incidencia de EICH grave en los pacientes que recibieron un Alo-TPH de donante HLA no idéntico<sup>82</sup>.

Posteriormente, Gerber y cols. establecieron el efecto protector frente al sangrado del TAPH respecto al Alo-TPH (O.R.: 0,46; I.C. 95%: 0,33 – 0,64)<sup>75</sup>.

b) Trombocitopenia:

Los pacientes sometidos a un TPH presentan una reducción en el recuento plaquetario, y casi el 90% de los pacientes presentan una trombocitopenia grave durante el periodo de aplasia a pesar de la administración profiláctica de plaquetas<sup>74</sup>. La presencia de trombocitopenia se ha identificado como un factor de riesgo de hemorragia intracraneal<sup>116,117</sup>. Del mismo modo, la mayoría de los episodios de hemorragia digestiva ocurrieron durante la trombocitopenia grave (recuento de plaquetas, mediana:  $24 \times 10^9/L$ )<sup>98</sup>. Pero, varios estudios sobre la cistitis hemorrágica no han identificado la trombocitopenia como un factor de riesgo de sangrado, implicando otros factores de riesgo (por ejemplo, el régimen de acondicionamiento, infecciones, EICH, etc.)<sup>120,121</sup>.

El riesgo de sangrado asociado con la trombocitopenia en el contexto del TPH ha sido estudiado específicamente por Nevo y cols. al comparar una cohorte de 321 receptores de un TPH con sangrado moderado o grave con un grupo pareado de 287 TPH que no presentaron ninguna complicación hemorrágica<sup>119</sup>. Todos los pacientes recibieron transfusión profiláctica de plaquetas para mantener una cifra superior a  $20 \times 10^9/L$ . El desarrollo de complicaciones hemorrágicas se asoció con la trombocitopenia, aunque el riesgo atribuible a una trombocitopenia profunda (cifra de plaquetas igual o inferior a  $10 \times 10^9/L$  durante al menos 3 días en un periodo de 7 días) no fue elevado, ya que sólo supuso el 8,6% de todos los eventos hemorrágicos. El riesgo de sangrado fue entre 1,2 y 1,6 veces superior en estos pacientes en comparación con aquellos que presentaron una cifra de plaquetas de  $10 \times 10^9/L$ , o inferior, durante menos de 3 días, en un periodo de 7 días. El 65,4% de los eventos hemorrágicos se iniciaron con una cifra de plaquetas superior a  $20 \times 10^9/L$ , y sólo el 13,5% con plaquetas igual o inferiores a  $10 \times 10^9/L$ . Por tanto, mantener una cifra de plaquetas por encima del nivel deseado ( $20 \times 10^9/L$ ) no previno dos tercios de los eventos hemorrágicos graves o moderados. Además, el sangrado persistió a pesar de mantener una cifra de plaquetas por encima de  $30 \times 10^9/L$  tras el inicio del sangrado. Estos datos indicarían que cuando los pacientes reciben transfusiones profilácticas de plaquetas, la trombocitopenia no sería el principal factor de riesgo en la mayoría de los eventos hemorrágicos.

Posteriormente, Pihusch y cols. observaron que el 87,3% de los receptores de un TPH que presentaron algún tipo de complicación hemorrágica tenían una cifra de plaquetas



inferior a  $50 \times 10^9/L$ . Pero, lo más importante fue que hallaron una fuerte correlación lineal entre la duración de la trombocitopenia (entendida como una cifra de plaquetas inferior a  $20 \times 10^9/L$ ) y el número de eventos hemorrágicos tras el TPH<sup>74</sup>. Este aumento del riesgo de sangrado se observó tanto para los eventos hemorrágicos leves (RR: 1,5) como para los graves (RR: 3,8) al comparar un periodo de trombocitopenia de 4 meses respecto a 1 mes de duración<sup>74</sup>. Por el contrario, la duración de la trombocitopenia no tuvo ningún impacto en la incidencia de hemorragia letal<sup>74</sup>. Sin embargo, a pesar de que la duración de la trombocitopenia es similar en el TAPH y en el Alo-TPH, tras el Alo-TPH se observa una mayor incidencia y gravedad de los eventos hemorrágicos que tras el TAPH. Por todo esto, se debería tener en cuenta el papel de otros factores de riesgo en la fisiopatología del sangrado tras el Alo-TPH.

c) Trombocitopatía:

Existen observaciones limitadas que indican la presencia de una trombocitopatía adquirida tras el Alo-TPH y su posible relación con una mayor tendencia al sangrado<sup>122</sup>. Así, las plaquetas de los receptores de un Alo-TPH se tiñen débilmente con mepacrina, lo que indica un contenido disminuido de cuerpos densos, aunque no se detecta una degranulación de los gránulos alfa o de los lisosomas<sup>122</sup>. Además, se puede observar una expresión disminuida del receptor del colágeno en su superficie plaquetaria<sup>122</sup>.

d) Enfermedad injerto contra huésped:

La asociación de la EICH con la hemorragia tras Alo-TPH se ha comunicado por varios autores<sup>81,105,106,120,123</sup>. Además, la gravedad de la hemorragia se relaciona de manera significativa con la gravedad del EICH. Según Nevo y cols.<sup>81</sup>, el 53,5% de los pacientes con EICH agudo grado II-IV desarrollaron una complicación hemorrágica moderada o grave, en comparación con el 22,3% de los pacientes con EICH agudo grado 0-I<sup>81</sup>. En este estudio se identificó una asociación entre el sangrado gastrointestinal ( $P=0,004$ ) y pulmonar ( $P=0,004$ ) con el EICH<sup>81</sup>.

A partir de este momento, todos los estudios posteriores coincidieron en la relación entre el EICH y la mayor incidencia de sangrado post-trasplante<sup>74,75,82</sup>. Pihusch y cols., identificaron que los pacientes con EICH, tanto agudo grado II-IV, como crónico extenso, presentaban una mayor incidencia de sangrado, en especial, de hemorragia digestiva y cistitis hemorrágica<sup>74</sup>. Aquellos pacientes que desarrollaron EICH agudo grado II-IV presentaban un RR de 3,5 (I.C. 95%: 2,1 – 5,8) y de 1,7 (I.C.: 95% 1,1 – 2,6) de sangrado leve y grave,

respectivamente, con respecto a quienes no desarrollaban EICH agudo (o desarrollaban EICH agudo grado I)<sup>74</sup>. Incluso aquellos pacientes que desarrollaban EICH crónico extenso presentaban mayor riesgo de sangrado leve y grave, con un RR de 4,0 (2,0 – 8,5) y 10,8 (1,3 – 84), respectivamente. Además, la EICH crónica extensa también se asoció con un mayor riesgo de sangrado cutáneo y oral<sup>74</sup>. Bacigalupo también observó una mayor incidencia de hemorragia en aquellos pacientes con EICH agudo (46% vs. 29%), la cual se asociaba a la gravedad del EICH, con una incidencia del 55% vs. 31% vs. 23%, en función de si desarrollaban EICH agudo grado III-IV, II o 0-I, respectivamente<sup>82</sup>. Gerber y cols., observaron que aquellos pacientes con EICH presentaban una O.R. de 2,4 (I.C. 95% 1,8 – 3,3)<sup>75</sup>.

Esta asociación entre la EICH y el sangrado podría justificarse por el daño inmunológico del endotelio vascular y del epitelio relacionado con el EICH en aquellos órganos diana<sup>85</sup>. Pero hay que tener en cuenta además que la afectación del EICH grave a nivel del tubo digestivo produce una enfermedad inflamatoria intestinal que da lugar a amplias lesiones de la mucosa intestinal, produciendo una diarrea hemorrágica que se puede ver agravada por un descenso de los niveles de FXIII de la coagulación por el EICH<sup>124</sup>.

Finalmente, Najima y cols. también hallaron la asociación entre el desarrollo de EICH agudo grave (grado III-IV) y hemorragia intracraneal<sup>125</sup>.

e) Anticoagulación:

El inicio de tratamiento anticoagulante durante el TPH (entre los días +1 al +180) fue el mayor predictor de sangrado con una O.R. de 3,1 (I.C. 95%: 1,8 – 5,5) en el estudio realizado por Gerber y cols.<sup>75</sup>.

f) Otros posibles factores de riesgo (Raza, Fuente de CPH, Acondicionamiento, Profilaxis EICH):

La raza no-blanca se asoció con sangrado, con una O.R. de 1,3 (95% I.C.: 1,1 – 1,6)<sup>75</sup>.

No fue hasta el año 2003, debido al mayor uso de la SP en el Alo-TPH, cuando Bacigalupo y cols. pudieron evaluar por primera vez el impacto de la fuente de PH (MO vs. SP) en la hemorragia tras Alo-TPH<sup>82</sup>. Observaron un ligero aumento de complicaciones hemorrágicas en los pacientes que recibieron MO en comparación con aquellos que recibieron SP (24% vs. 18%), pero esta diferencia no fue significativa (P=0,3). Esto podría ser debido por la diferencia del injerto plaquetario entre las dos fuentes de PH. El injerto

plaquetario al día +21 fue más rápido con la SP que con MO. Sin embargo, a partir del día +30 en adelante los recuentos de plaquetas fueron casi iguales<sup>82</sup>.

El régimen de acondicionamiento MA, recibido en el contexto del Alo-TPH de DE de MO, se relacionó de manera significativa con el desarrollo de complicaciones hemorrágicas<sup>81</sup>. Aquellos pacientes que recibieron regímenes que contenían Busulfán y Ciclofosfamida (Busulfán-Ciclofosfamida o Busulfán-Etopósido-Ciclofosfamida) presentaron una mayor incidencia de sangrado que aquellos receptores que recibieron Ciclofosfamida (Cy) + ICT (43% vs. 53,7% vs. 33,7%, respectivamente;  $P=0,0113$ ), a pesar de no haber diferencias significativas en el desarrollo de EICH entre los distintos regímenes recibidos<sup>81</sup>. Pihusch observó que los regímenes con Cy tenían mayor riesgo de cistitis hemorrágica, tanto antes del día +100 (23,5 vs. 11,4%,  $P=0,044$ ) como después (25,1 vs. 11,4%,  $P=0,027$ ), con un RR de 2,4 (0,9 – 6,4) y 2,6 (1,0 – 6,8), respectivamente; mientras que no se apreció un aumento de hemorragias con el Busulfán<sup>74</sup>. Por otro lado, el desarrollo de EICH, tanto aguda, como crónica, se asoció con una mayor incidencia de cistitis hemorrágica en el grupo de pacientes que recibieron Cy, con un RR de 2,4 (1,4 – 4,2) y 2,7 (1,7 – 4,4), respectivamente<sup>74</sup>. El uso de Cy no se asoció con un mayor riesgo de EICH en este estudio.

Nevo y cols. no observaron diferencias de sangrado en relación con el tipo de profilaxis frente al EICH recibida (ciclosporina vs. ciclosporina y metotrexato)<sup>81</sup>.

El uso de timoglobulina (ATG) en la prevención y el tratamiento de la EICH se ha asociado con un riesgo elevado de alteraciones de la hemostasia<sup>126</sup>. Esta mayor tendencia al sangrado podría ser debida a la unión del ATG a la superficie de los linfocitos T circulantes, lo que daría lugar a una linfopenia, una alteración de la respuesta inmune celular T, y síntomas relacionados como fiebre, escalofríos y erupciones cutáneas. El uso de ATG podría dar lugar a un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. El ATG podría inducir a los monocitos y macrófagos a sintetizar  $TNF-\alpha$  e IL-1. Esta liberación de citoquinas daría lugar a un daño endotelial precoz, incrementando así el riesgo de fallo orgánico. Además, esta liberación de citoquinas activaría la coagulación e inhibiría la fibrinólisis, y también podría inducir una coagulación intravascular diseminada<sup>126</sup>.

La enfermedad veno-oclusiva hepática también se relacionó con mayor riesgo de sangrado en un estudio, con una O.R. de 2,2 (95% I.C.: 1,4 – 3,6)<sup>75</sup>.

Distintos parámetros de laboratorio como el tiempo de protrombina (prolongado en el 16% de los pacientes que sangran), niveles de fibrinógeno sérico (bajos en el 2,9% de los pacientes sangrantes), tiempo de tromboplastina parcial activado (acortado en el 2,2%) o los niveles de antitrombina (bajos en el 13,6%), se han estudiado sin observar ninguna correlación con el sangrado<sup>74</sup>.

### **2.3.3. Factores de riesgo relacionados con la gravedad del sangrado**

En el estudio inicial realizado por Nevo y cols. la hemorragia se localizó en un sólo sitio en 200 de los 328 pacientes (61%) que presentaron un sangrado moderado o grave, 50 receptores de los 328 analizados (17,4%) presentaron hemorragia en 2 localizaciones, en 10 de los 328 (10%) sangraron por al menos 3 localizaciones y 21 de los 328 (6,4%) presentaron hemorragia en múltiples localizaciones de manera simultánea<sup>96</sup>. Se encontró una correlación significativa entre el número de localizaciones y la gravedad del sangrado ( $P=0,0022$ ). Al analizar los 187 casos de sangrado moderado o grave localizados en una única localización, hubo una asociación estadísticamente significativa entre la localización del sangrado y la gravedad del mismo ( $P<0,001$ ). Todos los episodios hemorrágicos intracraneales fueron considerados graves, seguido de la hemorragia pulmonar (8/11 fueron considerados graves) y gastrointestinal (63/124), mientras que sólo 9/38 cistitis hemorrágicas fueron consideradas graves<sup>96</sup>.

Los episodios de sangrado moderado o grave son más frecuentes tras el Alo-TPH de DE (31%) y el Alo-TPH de DNE (62,5%) en comparación con el TAPH (18,5%) ( $P<0,0001$ )<sup>96</sup>. Mientras que la incidencia de sangrado leve es similar tras el Alo-TPH de DE (9,3%) y el TAPH (11,8%), no siendo leve ninguno de los episodios de sangrado tras el Alo-TPH de DNE<sup>96</sup>.

La incidencia de sangrado moderado o grave fue diferente según el diagnóstico de la enfermedad de base. Aquellos pacientes diagnosticados de una leucemia mieloblástica aguda y una leucemia mieloide crónica presentaron la incidencia más elevada de hemorragia moderada o grave (32% y 38,2%), mientras que las pacientes con cáncer de mama presentaron la incidencia más baja (6,5%) en comparación con el resto de diagnósticos. El grupo pronóstico inicial de cada patología (bajo riesgo o alto riesgo) no se asoció con una mayor incidencia de sangrado<sup>96</sup>.

### 2.3.4. Impacto de la hemorragia tras Alo-TPH en la supervivencia

Como era de esperar, las mayores tasas de mortalidad se han encontrado en los receptores que sufren una hemorragia pulmonar difusa (de hasta el 100%)<sup>111,127</sup> o una hemorragia cerebral<sup>116,117,128</sup>. Curiosamente, los hematomas subdurales frecuentemente se resuelven con tratamiento conservador y no se han asociado con un peor pronóstico inmediato<sup>116,117,128</sup>. La cistitis hemorrágica es una complicación autolimitada en la mayoría de las ocasiones, aunque se puede asociar con una grave morbilidad y podría contribuir en la mortalidad<sup>102,106,120,121,129</sup>. Así, el 22% de los pacientes con cistitis hemorrágica sobrevivían a los 6 meses, en comparación con el 65% de los que no desarrollaban cistitis hemorrágica<sup>108</sup>. También se ha descrito una menor supervivencia de los pacientes que desarrollan una cistitis hemorrágica antes del día +100 del Alo-TPH<sup>130</sup>. Por el contrario, se objetivan resultados contradictorios en relación a la mortalidad de las hemorragias gastrointestinales en pacientes trasplantados<sup>127</sup>.

Nevo y cols. demostraron que el sangrado se asocia con una menor supervivencia, tanto en la cohorte total de TPH ( $P < 0,001$ ), como en el grupo de Alo-TPH de DE (la mediana de SG de los pacientes que sangran fue de 3,5 meses, en comparación con más de 33 meses los que no;  $P < 0,001$ ), como en el grupo de Alo-TPH de DNE (mediana de SG de 1,9 meses los 15 pacientes que sangran en comparación con 12,3 meses los 9 Alo-TPH DNE que no;  $P < 0,04$ )<sup>96</sup>. Posteriormente, otros dos estudios retrospectivos confirmaron una menor SG en aquellos Alo-TPH que desarrollaron complicaciones hemorrágicas<sup>74,82</sup>. En el estudio de Pihusch y cols. los Alo-TPH que sangraban presentaban una mayor mortalidad (del 52,8%) en comparación con los que no sangraron (36,8%)<sup>74</sup>. En el estudio de Bacigalupo, los Alo-TPH que sangraron presentaron una SG a los 10 años del 50%, inferior que los pacientes que no (SG: 75%)<sup>82</sup>.

Esta menor SG de los pacientes que sangraban se encontró en cada uno de los diagnósticos por separado (leucemia aguda linfoblástica, leucemia mieloblástica aguda, linfomas no Hodgkin, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, aplasia medular, cáncer de mama), excepto en los pacientes con mieloma múltiple (aunque la mediana de SG en los pacientes con sangrado fue de 2,4 meses, en comparación con 22 meses en los pacientes que no sangran,  $P > 0,05$ ) probablemente por el escaso número de pacientes analizados<sup>96</sup>. Este efecto adverso del sangrado en la SG también se observó en cada uno de los grupos pronósticos (bajo y alto riesgo). Los pacientes de bajo riesgo pronóstico tenían peor SG si sangraban en comparación con los pacientes de alto riesgo que no sangraron<sup>96</sup>.

Además, la influencia del sangrado en la SG era independiente del desarrollo de EICH. Los pacientes con EICH grado 0-I y II-IV que no sangraron tuvieron una SG de 83,2 y 10,6 meses, en comparación con los pacientes con EICH grado 0-I y II-IV que sangraron, que tuvieron una SG de 4,3 y 3,2 meses, respectivamente<sup>81</sup>.

La localización del sangrado también influyó en la SG<sup>74,96</sup>. Mientras que los pacientes con hemorragia intracraneal y pulmonar presentaron una SG de 2,5 y 1,3 meses, respectivamente; los pacientes con cistitis hemorrágica o sangrado digestivo tuvieron una mayor SG, 7,2 y 5,2 meses<sup>96</sup>. Pihusch y cols. también observaron que la hemorragia intracraneal era la localización con mayor mortalidad (57,1%), seguida de la hemorragia digestiva (48,2%), con un RR de 1,6 veces mayor en el Alo-TPH (I.C. 95%: 1,1 – 2,4)<sup>74</sup>. Mientras que otras localizaciones presentaban una mortalidad del 44,2%<sup>74</sup>. Finalmente, mientras que los pacientes con sangrado digestivo tuvieron una mayor tasa de mortalidad en comparación con los que no tuvieron sangrado digestivo (80% vs. 25%), el desarrollo de cistitis hemorrágica no influyó en la SG en el estudio de Bacigalupo<sup>82</sup>.

El número de localizaciones también influyó en la SG. La SG de aquellos que sangraron en 1, 2, 3 o más localizaciones, o bien en múltiples localizaciones de manera simultánea fue de 5,7 meses, 2,8 meses, 2,3 meses y 1,1 meses respectivamente. Observando diferencias estadísticamente significativas entre 0, 1 y 2 o más localizaciones<sup>96</sup>. Posteriormente, se confirmó que el número de localizaciones (1 vs. 2 o más) en los pacientes que recibieron un Alo-TPH de DE se asoció con la SG tanto en el grupo con EICH (3,5 vs. 2,7 meses; P=0,0061) como en el grupo que no desarrolló EICH (4,9 vs. 1,9 meses; P=0,0112)<sup>81</sup>.

La gravedad de la trombocitopenia durante la semana previa al comienzo del sangrado no se ha asociado en estudios previos con la SG en los pacientes que sangran<sup>119</sup>. La SG de los pacientes que sangraron fue de 4,7 vs. 3,4 vs. 3,6 meses (P=0,53), respectivamente, según tuvieran una cifra de plaquetas por encima de  $20 \times 10^9/L$ , entre 11 y  $20 \times 10^9/L$  o igual o inferior a  $10 \times 10^9/L$ . Por el contrario, la gravedad de la trombocitopenia se asoció con la SG en el grupo de pacientes que no sangró. Los pacientes que mantuvieron la cifra de plaquetas  $> 20 \times 10^9/L$  tuvieron una SG de 50 meses en comparación con 28,2 y 10,8 meses en aquellos con una cifra de plaquetas entre 11 –  $20 \times 10^9/L$  y aquellos con  $< 10 \times 10^9/L$ , respectivamente<sup>119</sup>.

La gravedad del sangrado influyó significativamente en la SG<sup>74,81,96</sup>. La SG (mediana) fue superior a 33 meses en los pacientes que no sangraron, 10 meses si presentaron un sangrado menor ( $P=0,089$  en comparación con los que no sangraron), 3,5 meses si presentaron un sangrado moderado ( $P<0,001$  en comparación con sangrado menor), y 2,8 meses aquellos que presentaron un sangrado grave ( $P=0,025$  en comparación con los que presentaron un sangrado moderado)<sup>81,96</sup>. Además, a mayor gravedad del sangrado, mayor fue la asociación temporal con el fallecimiento del paciente<sup>96</sup>. En el estudio de Pihusch y cols., mientras que los Alo-TPH con sangrado leve tuvieron la misma tasa de mortalidad que los que no (45,4% vs. 45,1%), los Alo-TPH con sangrado grave tuvieron una mayor tasa de mortalidad (55,6% vs. 38%) con un RR de 2,0 (I.C. al 95%: 2,3 – 3,1)<sup>74</sup>. Sin embargo, la hemorragia fue la causa de la muerte en un pequeño número de pacientes. Esta baja incidencia de sangrado letal comparado con la incidencia de sangrado moderado o grave, podría revelar que el sangrado es un efecto secundario de otras complicaciones coexistentes. Por lo tanto, estos resultados plantean cuestiones sobre la significación clínica del sangrado. El desarrollo de complicaciones hemorrágicas podría significar una situación clínica más grave que la complicación estrictamente local. Se deben realizar mayores análisis que evalúen el impacto pronóstico del sangrado, y como indicador clínico de pacientes en riesgo.

Finalmente, Bacigalupo observó que los Alo-TPH con complicaciones hemorrágicas presentaban ingresos más largos, 70 días vs. 52 días de mediana ( $P<0,0001$ )<sup>82</sup>.

Estos datos refuerzan el concepto de que un manejo eficaz del sangrado post-trasplante es esencial para mejorar el pronóstico de estos pacientes y reducir la mortalidad precoz. Además podría tener un importante impacto económico, al reducir la duración de la estancia hospitalaria.

## **2.4. MICROANGIOPATÍA TROMBÓTICA ASOCIADA AL TRASPLANTE**

La microangiopatía trombótica asociada al trasplante (MAT-AT) es una complicación recientemente documentada y temida debido a su alta mortalidad<sup>131</sup>. Además, en aquellos pacientes que sobreviven, la MAT-AT puede estar asociada con una importante morbilidad a largo plazo, que incluye hipertensión o enfermedad renal crónica, entre otras<sup>132-134</sup>.

Dado que comparte características con otras microangiopatías, como el síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) y la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT), la

MAT-AT ha sido tradicionalmente incluida dentro de la familia de las microangiopatías trombóticas, a pesar de la cada vez mayor evidencia que la distingue como una entidad diferente<sup>135</sup>. Hoy en día, podemos considerarla ya como una entidad propia post-TPH<sup>132,136</sup>.

Es probable que, un daño endotelial generalizado en el contexto del TPH, independiente de la actividad de la enzima ADAMTS13, sea el principal evento que desencadena la vía final común de la enfermedad, causando una anemia hemolítica microangiopática y un consumo de plaquetas que da lugar a la formación de trombos y al depósito de fibrina en la microcirculación, siendo el riñón el órgano más frecuentemente afectado (rara vez se han publicado el daño en otros órganos)<sup>131,135,137-142</sup>. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con otras microangiopatías trombóticas no asociadas al trasplante, los mecanismos que dan lugar a ese daño endotelial siguen sin estar bien definidos, lo que dificulta su mejor precisión diagnóstica y un adecuado manejo terapéutico<sup>135</sup>.

#### **2.4.1. Incidencia y factores de riesgo de MAT-AT**

La incidencia comunicada de MAT-AT varía enormemente desde el 0,5% al 63,6%, lo cual es, al menos en parte, una consecuencia de la marcada discrepancia en las definiciones utilizadas, la falta de criterios diagnósticos uniformes y los limitados datos prospectivos existentes<sup>131,143</sup>. Sin embargo, la incidencia publicada en los mayores estudios retrospectivos realizados es del 10 – 25%, que probablemente supongan el verdadero reflejo de esta enfermedad<sup>135,138,144-146</sup>.

Normalmente aparece alrededor del día +60, pero se han descrito casos muy precoces (día +4) y muy tardíos (2 años).

A diferencia de lo que ocurre en la PTT, la MAT-AT no se asocia con una falta de actividad de ADAMTS13 clínicamente significativa<sup>137,141</sup>. Hay múltiples factores que pueden contribuir a la vía final común de daño endotelial en la MAT-AT:

a) Regímenes de acondicionamiento:

La MAT-AT es más frecuente tras el Alo-TPH, pero también sigue siendo una complicación importante del TAPH<sup>135,137,147</sup>. En el contexto del TAPH se ha comunicado MAT-AT en pacientes con neuroblastoma que han recibido un régimen de acondicionamiento con altas dosis de quimioterapia con carboplatino, etopósido y melfalán (CEM), siendo una enfermedad grave y con afectación de varios órganos<sup>137,147</sup>.



Otros posibles factores de riesgo, publicados en estudios retrospectivos, han sido asociados con el desarrollo de MAT-AT tras el Alo-TPH, la mayoría de ellos en relación con los fármacos utilizados en el curso del trasplante y con las complicaciones infecciosas.

Diferentes regímenes de acondicionamiento, tanto mieloablativos como de intensidad reducida, especialmente aquellos que incluyen busulfán, fludarabina, cisplatino o ICT, son factores de riesgo de MAT-AT<sup>141,144,145,148,149</sup>. Estos estudios no han podido demostrar una diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de MAT-AT entre los regímenes de acondicionamiento MA y los AIR<sup>144,145</sup>.

b) Inhibidores de la calcineurina y de mTOR (mammalian Target of Rapamycin):

Otros fármacos frecuentemente asociados con la MAT-AT incluyen los utilizados para la profilaxis de EICH, especialmente los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina, tacrolimus) y los inhibidores de mTOR (sirolimus)<sup>145,150-153</sup>.

El uso reciente de ambos fármacos en combinación, tacrolimus más sirolimus (TAC/SIR), se ha asociado a un incremento en el riesgo de MAT-AT en algunos estudios, especialmente en pacientes que recibieron busulfan más ciclofosfamida como parte del régimen de acondicionamiento<sup>150-152,154</sup>. A la luz de estos hallazgos, algunos autores han advertido que la combinación de inhibidores de la calcineurina con sirolimus requiere una vigilancia especial y estrecha de MAT-AT<sup>152,153</sup>. Sin embargo, muy pocos estudios han evaluado el riesgo de MAT-AT entre los pacientes que reciben TAC/SIR en comparación con otros regímenes basados en tacrolimus. En un reciente estudio prospectivo fase II multicéntrico conducido por nuestro grupo no se observaron diferencias en la incidencia de MAT-AT cuando TAC/SIR fue comparado con pacientes incluidos en un estudio prospectivo previo en el que se utilizó ciclosporina y micofenolato<sup>155</sup>. Otros dos estudios recientes sugieren que la incidencia de MAT-AT no es significativamente diferente entre los pacientes que recibieron TAC/SIR y aquellos que recibieron tacrolimus y metotrexato (TAC/MTX) para la profilaxis de EICH<sup>156,157</sup>.

c) EICH:

Algunos autores han especulado que el propio desarrollo de EICH aumenta el riesgo de MAT-AT, pero los estudios han sido contradictorios y están limitados por su diseño retrospectivo<sup>73,138,158-161</sup>.

Aunque varios estudios han identificado una asociación entre el desarrollo de MAT-AT y la EICH aguda, la relación es confusa por la exposición a inhibidores de la calcineurina y el diseño retrospectivo de los análisis, lo que impide un análisis preciso de la asociación temporal<sup>137-139</sup>. Sin embargo, no resulta sorprendente la relación entre la EICH y la MAT-AT, dado que durante el injerto, lo primero con lo que se encuentran los linfocitos T del donante son las células endoteliales del receptor, que son las células primariamente afectadas en los pacientes con MAT-AT<sup>73,145,158</sup>. En apoyo de esta teoría, Changsirikulchai y cols. estudiaron una serie de necropsias, demostrando que la probabilidad de desarrollar MAT-AT era cuatro veces mayor en los pacientes con EICH aguda que en los pacientes sin ella<sup>138</sup>.

Del mismo modo, Mii y cols. recientemente observaron que existe una asociación entre la EICH, tanto aguda como crónica, en 7 pacientes que desarrollaron MAT-AT<sup>162,163</sup>. En estos pacientes receptores de un Alo-TPH, se observaron hallazgos muy similares al rechazo agudo tras el trasplante renal, lo que sugiere un mecanismo infamatorio causante del daño, o EICH, en la patogénesis de la MAT-AT. Clásicamente, la EICH afecta al tejido epitelial de la piel, el tubo digestivo y los pulmones. Sigue siendo concebible que la EICH también pueda dañar el tejido endotelial y por lo tanto, la MAT-AT podría representar una forma de “EICH renal”<sup>132,159,164</sup>. Pero esta relación entre la EICH y la MAT-AT sigue sin estar demostrada. La evidencia en contra de esta asociación incluye el hecho de que ambas complicaciones pueden ocurrir independientemente una de la otra, y, además, el aumento de la inmunosupresión, que consiste en el tratamiento principal de la EICH, por lo general no sirve para prevenir o tratar la MAT-AT<sup>132,144,165,166</sup>. La MAT-AT también ha sido bien documentada después del TAPH y en receptores de un Alo-TPH sin ninguna evidencia de EICH. Por tanto, se puede concluir que hay datos contradictorios acerca de si el EICH es un factor de riesgo de MAT-AT o no<sup>132</sup>.

d) Infecciones:

Por último, varias infecciones, tanto víricas como fúngicas, siendo *Aspergillus*, citomegalovirus y adenovirus las más frecuentes, se han asociado con MAT-AT<sup>131,146,166</sup>. Las infecciones virales son a menudo consideradas como el “gatillo” o “desencadenante” de la MAT-AT, ya que los pacientes con signos de lesión de los pequeños vasos pueden tener infecciones concomitantes como citomegalovirus, adenovirus, parvovirus B19, herpes virus humano del grupo 6 y, más recientemente, el virus BK<sup>131,135,137,146,167,168</sup>. Sin embargo, los mecanismos exactos que conducen al daño endotelial durante la primoinfección viral o la reactivación, siguen siendo desconocidos. Del mismo modo, queda por determinar si las

infecciones víricas son una causa de daño endotelial vascular en el contexto de la MAT-AT o son simplemente una manifestación de la gravedad general en pacientes Alo-trasplantados con enfermedad aguda.

#### **2.4.2. Patogenia**

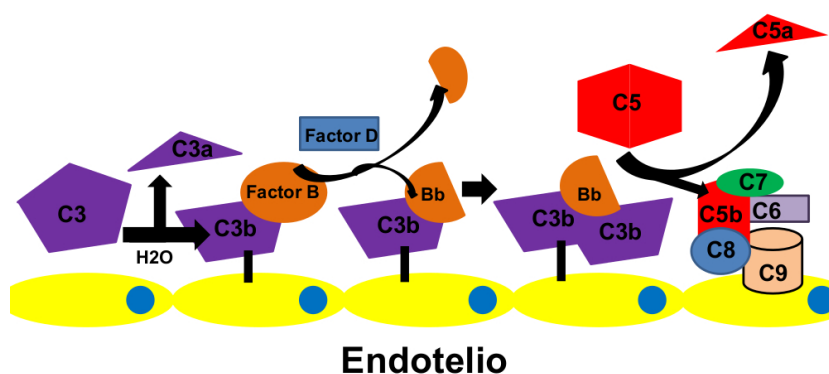
Inicialmente se pensaba que la MAT-AT era una PTT, debido a sus similitudes histológicas y en la presentación clínica. Sin embargo, dado que la MAT-AT no respondía bien al tratamiento con recambios plasmáticos, se empezaron a considerar como enfermedades diferentes<sup>142</sup>. Actualmente se sabe que la PTT está asociada con unos niveles muy descendidos en la actividad de la metaloproteasa ADAMTS13, bien debido a un defecto congénito asociado a una mutación del gen *ADAMTS13* o, más frecuentemente, debido a la presencia en la circulación de autoanticuerpos, habitualmente IgG, frente a la metaloproteasa ADAMTS13. Por el contrario, la actividad de ADAMTS13 raramente disminuye por debajo de 10-15% en la MAT-AT<sup>135,137,141</sup>.

Lo que parece claro es que hay múltiples factores que contribuyen a desencadenar la vía final común de la enfermedad, que consiste en un daño endotelial generalizado que daría lugar a la formación de microtrombos en los pequeños vasos<sup>135,137</sup>. Se piensa que el endotelio lesionado libera factor tisular, el cual se unirá al factor VIIa y al FvW, que promueven la formación de microtrombos plaquetarios. Además, las células endoteliales activadas expresan moléculas de adhesión, permitiendo el reclutamiento de células presentadoras de antígeno y de linfocitos. Las células presentadoras de antígeno liberarán factor de necrosis tumoral, potenciando la respuesta inflamatoria. Los linfocitos activados producirán anticuerpos potencialmente específicos del receptor (en el TPH), lo cual podría activar la vía del complemento. La activación del complemento conduce a la generación de un complejo de ataque a la membrana que induce la lisis celular. Finalmente, el daño tisular y la inflamación darían lugar al depósito de fibrina<sup>132</sup>.

Datos más recientes sugieren que la MAT-AT, al igual que otras microangiopatías trombóticas, como el SHUa, podría deberse a una desregulación de la vía alternativa del complemento (Figura 9)<sup>132</sup>. En los pacientes con SHUa existe un defecto congénito debido a mutaciones en los genes relacionados con el factor H (*CFH*, *CFHR1/3*, *CFHR5*), el factor I (*CFI*), el cofactor de la proteína de membrana (*MPC*), el factor B (*CFB*) y C3 (*C3*), o bien un defecto adquirido debido a la formación de anticuerpos neutralizadores del factor H<sup>132</sup>. Algunos estudios han mostrado que mutaciones y deleciones en genes relacionados con el

factor H se relacionan con el desarrollo de auto-Ac frente al factor H en pacientes con SHUa<sup>169</sup>. Dado que la prevalencia del déficit de CFHR1 y CFHR3 en la población blanca es de alrededor del 5%, esto lo podría convertir en un importante factor de riesgo para el desarrollo de MAT-AT<sup>170</sup>. Sin embargo, son muy pocos los estudios que han evaluado el papel del complemento en la MAT-AT. Hale y cols. evaluaron retrospectivamente los niveles de C3, C4 y la actividad del complemento (CH50) en 11 pacientes con MAT-AT, sin encontrar alteraciones<sup>148</sup>. Muy recientemente, Jodele y cols. han identificado defectos en la regulación del complemento en una serie de seis pacientes con MAT-AT<sup>171</sup>. Cinco de estos 6 pacientes (83%) tenían una delección heterocigota de *CFHR3-CFHR1*, muy superior al 25% observado aproximadamente en la población general<sup>172</sup>. Además, en 3 de estos 6 pacientes se demostró la presencia de autoanticuerpos frente al factor H, mientras que no se detectaron en ninguno de los 18 pacientes sin MAT-AT evaluados como grupo control. Además, no se observó la presencia de estos autoanticuerpos previo al Alo-TPH, y algunos de ellos no presentaban la predisposición genética previamente descrita<sup>171</sup>. Finalmente, cuatro de estos 6 pacientes respondieron favorablemente al tratamiento con recambio plasmático total y rituximab, posiblemente al neutralizar la actividad de los anticuerpos.

#### Desregulación de la vía alternativa del complemento y daño endotelial



**Figura 9.** La activación de C3 mediante un proceso de hidrólisis da lugar a la formación de C3b (su forma activa), el cual se une covalentemente a la superficie de las células endoteliales. Esta unión de C3b con el endotelio permitirá que el factor B se una a C3b y, por medio del factor D, dará lugar a su forma activa, el fragmento Bb. El complejo C3bBb actúa como una convertasa de C3, generando más moléculas de C3b, que a su vez generarán nuevas moléculas de Bb, lo que conducirá a la amplificación de esta vía. Además, este complejo C3bBb, al unirse a una segunda molécula C3b (C3bBb-C3b), actúa como una convertasa de C5, el cual se fragmenta en C5a y C5b. Este fragmento C5b sirve como nido para la formación del complejo lítico de ataque de la membrana (C5b-C9) en la superficie endotelial, el cual daría lugar al daño endotelial

No obstante, lo que parece claro es que son varios los factores que dan lugar al daño endotelial que origina la MAT-AT, siendo la mayoría de ellos factores iatrogénicos. Muchos de estos factores, sobre todo la EICH y las infecciones, también podrían activar la vía del complemento de diversas formas. Pero también hay que tener en cuenta la desregulación del sistema inmune que ocurre tras el trasplante, dando lugar a la formación de autoanticuerpos frente al factor H, dando también lugar a la activación del complemento y, por tanto, al daño endotelial. La desregulación del complemento podría ser un proceso de nueva aparición en receptores de un Alo-TPH con o sin formación de autoanticuerpos<sup>132</sup>.

### **2.4.3. Manifestaciones clínicas: de la MAT-AT**

La mediana de aparición de la MAT-AT se encuentra alrededor del día +60, pero se han descrito casos muy precoces (día +4) y muy tardíos (2 años).

La clínica de la MAT-AT consiste en una anemia hemolítica microangiopática, definida como una anemia y trombocitopenia de nueva aparición no explicadas por otra causa, LDH elevada, aumento de los requerimientos transfusionales y esquistocitosis en la extensión de sangre periférica. El diagnóstico requiere de una alta sospecha clínica, ya que se puede confundir fácilmente con otras complicaciones frecuentes tras el Alo-TPH.

El riñón es el órgano más afectado por el daño a los pequeños vasos asociado al TPH. Puede haber varias manifestaciones renales de la MAT-AT, como una insuficiencia renal (determinada mediante una tasa de filtrado glomerular estimado por debajo de lo normal), proteinuria e hipertensión<sup>132,136,173,174</sup>, aunque estas manifestaciones también se pueden observar en pacientes trasplantados (tanto de un órgano sólido como de PH) que no presentan MAT-AT<sup>175</sup>.

También se han descrito alteraciones neurológicas en los pacientes con MAT-AT, aunque sigue siendo muy impreciso el cómo se produce la enfermedad a nivel del sistema nervioso central. Las manifestaciones pueden incluir cefaleas, mareos, cambios de comportamiento, parestesias, convulsiones, alucinaciones, disminución del nivel de conciencia y coma.

Aunque estos síntomas son los tradicionalmente descritos en la literatura, está empezando a crecer la evidencia de que la MAT-AT es una enfermedad que puede afectar diferentes órganos, como el pulmón, o el tubo digestivo, etc., y cada uno podría mostrar una clínica específica de su afectación.

#### **2.4.4. Criterios diagnósticos de la MAT-AT**

El diagnóstico de la MAT-AT es fundamentalmente histológico, presentando unas características histológicas similares a las que se encuentran en la PTT, el SHU y el SHU atípico. La biopsia renal confirma la presencia de lesiones glomerulares y arteriales características, que incluyen el engrosamiento de la pared capilar, hematíes fragmentados y la oclusión de la luz arterial y capilar por microtrombos hialinos acidófilos y PAS-positivos, en cuyo seno se hallan abundantes agregados de plaquetas envueltos por depósitos de fibrina<sup>137,139</sup>.

Sin embargo, se trata de un procedimiento que conlleva un riesgo elevado en estos pacientes, en quienes, como hemos visto, las complicaciones hemorrágicas son comunes<sup>138,176</sup>. Esta limitación se evidencia en la literatura, ya que a pesar de la alta incidencia de fallo renal tras el trasplante, menos del 2% de los pacientes se sometieron a una biopsia renal<sup>177-179</sup>.

Por otro lado, aunque la MAT-AT afecta casi exclusivamente al riñón<sup>139</sup>, se han publicado algunos casos clínicos recientemente que señalan la afectación de otros órganos, como los pulmones y el tracto gastrointestinal<sup>140,180</sup>. Para destacar la importancia del diagnóstico histológico, Inamoto y cols. observaron retrospectivamente que el 92% de los receptores de un Alo-TPH que se someten a una colonoscopia por una diarrea grave atribuida clínicamente a EICH, tenían evidencia histológica de MAT-AT, y sólo el 30% tenían signos histológicos de EICH concomitante<sup>181</sup>.

La limitada disponibilidad de un diagnóstico tisular ha llevado al desarrollo de criterios diagnósticos de MAT-AT no invasivos (Tabla 8)<sup>166,182</sup>. De hecho, antes de estos criterios de consenso, había hasta 28 criterios clínicos disponibles, lo que refleja el importante desafío diagnóstico de esta enfermedad<sup>131,135,141</sup>. Por este motivo, en un intento de estandarizar el diagnóstico, 2 grupos por separado desarrollaron unos criterios diagnósticos de consenso<sup>166,182</sup>. Las limitaciones de los criterios diagnósticos clínicos fueron evidenciadas por Changsirikulchai y cols., quienes, en su estudio de necropsias, encontraron poca correlación entre el diagnóstico histológico de MAT-AT y los criterios clínicos, llegando a la conclusión de que la MAT-AT es una enfermedad infradiagnosticada<sup>138</sup>. Previamente, otros dos estudios de necropsias también comunicaron la presencia histológica de MAT-AT en pacientes que no cumplían los criterios diagnósticos clínicos<sup>139,183</sup>. Del mismo modo, en un estudio realizado para evidenciar la presencia de MAT-AT intestinal, se observó que menos

del 15% de los pacientes con MAT-AT probada mediante biopsia cumplían los criterios clínicos<sup>181</sup>.

Un estudio de validación posterior también señaló las limitaciones de estas directrices, por lo que incluyeron el concepto de "MAT probable", que no requiere la presencia de alteraciones renales o neurológicas (Tabla 8)<sup>143</sup>. Hallazgos previos de Uderzo y cols. apoyarían este nuevo concepto, ya que la presencia de un compromiso neurológico o un fallo renal (creatinina basal x 2) podría excluir inadvertidamente a pacientes con MAT-AT, ya que estos hallazgos sólo estuvieron presentes en el 29% y el 20% de sus pacientes con MAT-AT, respectivamente<sup>146</sup>. Finalmente, un estudio prospectivo recientemente publicado, mostró que la creatinina sérica es un pobre marcador del fallo renal agudo tras el TPH, y los síntomas neurológicos aparecen principalmente en la MAT-AT grave con afectación multi-sistémica<sup>136</sup>

**Tabla 8. Criterios diagnósticos de MAT-AT**

***Blood & Marrow Transplant Clinical Trials Network consensus<sup>166</sup>***

1. 2 esquistocitos por campo en el frotis de sangre periférica +
2. Aumento de LDH sérica +
3. Disfunción renal(a) o neurológica sin otras posibles causas +
4. Test de Coombs directo e indirecto negativos

***International Working Group of the EBMT<sup>182</sup>***

1.  $\geq 4\%$  de esquistocitos en el frotis de sangre periférica +
2. De novo, prolongada o progresiva trombocitopenia ( $< 50 \times 10^9/L$  o descenso  $\geq 50\%$ ) +
3. Aumento brusco y persistente de la LDH sérica +
4. Disminución de la concentración de Hb o aumento del requerimiento transfusional +
5. Disminución en la concentración sérica de haptoglobina

***Probable TMA<sup>143</sup>***

1.  $\geq 2$  esquistocitos por campo en el frotis de sangre periférica +
2. Incremento de LDH sérica +
3. Trombocitopenia  $< 50 \times 10^9/L$  o un descenso de la cifra de plaquetas  $\geq 50\%$  +
4. Test de Coombs directo e indirecto negativos +
5. Disminución en la concentración sérica de haptoglobina +
6. Ausencia de coagulopatía.

(a)Creatinina basal x 2 o aclaramiento de creatinina a la mitad.

MAT-AT: Microangiopatía trombótica asociada al trasplante.

En resumen, los criterios diagnósticos actuales para la MAT-AT siguen teniendo limitaciones, y el riesgo hemorrágico de la biopsia tras el Alo-TPH dificulta enormemente el diagnóstico histológico<sup>135,176</sup>. Por tanto, el diagnóstico de la MAT-AT requiere una alta sospecha clínica y una monitorización estrecha de las manifestaciones de la enfermedad renal, que podrían ayudar a realizar un diagnóstico más precoz, lo cual es fundamental, ya que de ello depende el éxito del tratamiento<sup>135,143,176</sup>. Por este motivo, Jodele y cols. han propuesto de forma reciente incluir la proteinuria de  $\geq 30$  mg/dL y la hipertensión

(desproporcionada a lo que se esperaría del tratamiento con corticoides y con el uso de inhibidores de la calcineurina) como marcadores precoces del daño renal, además de los marcadores ya establecidos (Tabla 9), y sugieren que se debe sospechar una MAT-AT cuando los pacientes presenten una elevación aguda de la LDH y tengan proteinuria e hipertensión grave, ya que otros marcadores como los esquistocitos aparecen más tarde en el curso de la enfermedad, por lo que recomiendan su monitorización estrecha para poder realizar una intervención clínica inmediata<sup>136</sup>.

**Tabla 9. Nuevos criterios diagnósticos propuestos<sup>136</sup>**

- A. Microangiopatía diagnosticada mediante biopsia o
- B. Marcadores clínicos y de laboratorio indicadores de MAT-AT:
  - 1.- LDH por encima del límite superior de la normalidad.
  - 2.- Proteinuria  $\geq 30$  mg/dL.
  - 3.- Hipertensión:
    - < 18 años: Presión arterial en el percentil 95 para su edad, sexo y peso.
    - $\geq 18$  años: Presión arterial  $\geq 140/90$  mmHg.
  - 4.- Trombocitopenia de novo: cifra de plaquetas  $< 50 \times 10^9/L$  o un descenso  $\geq 50\%$ .
  - 5.- Anemia de novo:
    - Concentración de hemoglobina por debajo del límite inferior de la normalidad para su edad y sexo, o anemia que requiere soporte transfusional.
  - 6.- Evidencia de microangiopatía:
    - Presencia de esquistocitos en la extensión de sangre periférica o
    - Evidencia histológica de microangiopatía en una muestra tisular.
  - 7.- Activación del complemento terminal:
    - Elevación de la concentración plasmática de sC5b-9 por encima del límite superior de la normalidad.

---

MAT-AT: Microangiopatía trombótica asociada al trasplante.

<sup>1,2,3</sup>Presentes: considerar el diagnóstico de MAT-AT. Monitorización estrecha.

<sup>2 + 7</sup> al diagnóstico de MAT-AT indican características asociadas con mala evolución: considerar intervención terapéutica.

#### **2.4.5. Pronóstico de la MAT-AT**

El fallo renal, tanto agudo como crónico, es una consecuencia bien documentada de la MAT-AT. En general, tanto el fallo renal agudo (FRA) como la enfermedad renal crónica (ERC) siguen siendo complicaciones importantes para muchos receptores de un Alo-TPH, independientemente de si desarrollan una MAT-AT o no<sup>184</sup>. En un estudio prospectivo recientemente publicado, el 12,8% de los pacientes con MAT-AT requirieron diálisis, en comparación con el 5,8% de los Alo-TPH sin MAT-AT, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P=0,29$ )<sup>136</sup>. Sin embargo, la morbilidad de estos pacientes es muy elevada. En concreto, los pacientes con MAT-AT necesitaron mayor tratamiento antihipertensivo para el control de la presión arterial, requirieron ingreso en la unidad de cuidados intensivos, desarrollaron fallo respiratorio, o tuvieron mayor sangrado digestivo durante el primer año del trasplante<sup>136</sup>.



La MAT-AT también incrementa el riesgo posterior de ERC tras el Alo-TPH. En un estudio retrospectivo de 100 adultos que recibieron un Alo-TPH, aquellos que sufrieron una MAT-AT tuvieron un riesgo 4,3 veces mayor de desarrollar ERC y 9 veces mayor de tener hipertensión arterial, al compararlos con aquellos pacientes sin MAT-AT. Además, en aquellos pacientes que sobrevivieron a una MAT-AT, la función renal se deterioró hasta un 40% de lo normal a los 2 años<sup>173</sup>, y la mitad de los pacientes que desarrollaron MAT-AT requirieron tratamiento antihipertensivo durante al menos 6 meses tras el trasplante<sup>148</sup>.

La tasa de mortalidad en los pacientes con MAT-AT es muy elevada (superior al 60%), aunque resulta difícil determinar la causa exacta de la muerte o una asociación con la gravedad clínica global relacionada con EICH, infecciones, o ambas<sup>131,132,185</sup>.

#### **2.4.6. Tratamiento de la MAT-AT**

Dada la ausencia de ensayos clínicos controlados, el manejo de la MAT-AT consiste principalmente en el tratamiento de soporte. En este sentido, la primera línea de tratamiento consiste en la retirada o minimización de los posibles agentes causantes (es decir, los fármacos inhibidores de la calcineurina), el tratamiento de las condiciones concomitantes como las infecciones y la EICH que podrían promover la MAT-AT, y un manejo agresivo de la hipertensión. Otras opciones terapéuticas utilizadas han sido el recambio plasmático total, vincristina, rituximab y defibrotide, aunque en general, las respuestas son variables y pueden estar relacionadas con el momento de inicio del tratamiento, antes de que se produzca un daño orgánico irreversible. Actualmente, dado el reciente conocimiento acerca del posible papel de la vía del complemento en la fisiopatología de la MAT-AT, el fármaco que parece más prometedor es el eculizumab<sup>132,135</sup>.

##### a) Manipulación de la profilaxis para la EICH:

Aunque los fármacos inhibidores de la calcineurina y el sirolimus se han asociado al desarrollo de MAT-AT, no hay evidencia suficiente que apoye su discontinuación<sup>132,146</sup>, especialmente, si tenemos en cuenta la asociación clínica entre la EICH y la MAT-AT. Por tanto, el descenso o suspensión de los fármacos inmunosupresores no está exenta de riesgos. Por otro lado, la reducción de los niveles valle de los inhibidores de la calcineurina es muy controvertida y puede no ser eficaz. Changsrikulchai y cols. no encontraron una correlación entre los niveles de ciclosporina y la MAT-AT<sup>138</sup>, y Oran y cols. observaron que los pacientes con niveles supratrapéuticos de tacrolimus en el momento del diagnóstico de la MAT-AT tenían una evolución similar que aquellos con niveles de tacrolimus dentro del

rango terapéutico<sup>186</sup>. La sustitución de los inhibidores de la calcineurina por otros agentes inmunosupresores, como el micofenolato mofetilo y los corticoides, podría ser más beneficioso<sup>33,135,150,166</sup>. Daclizumab, un agente anti-IL-2 actualmente sustituido por basiliximab, también ha demostrado beneficios en los pacientes con MAT-AT<sup>187</sup>.

b) Recambio plasmático total:

La eficacia de los recambios plasmáticos totales (RPT) en la MAT-AT sigue siendo discutible, debido a los diferentes criterios de respuesta en los estudios retrospectivos, la retirada de otros agentes causales, el uso concomitante de rituximab y defibrotide y la ausencia de ensayos prospectivos controlados. Ho y cols., tras analizar 11 estudios (entre los años 1991 y 2003) observaron una tasa de respuestas pobre (mediana del 36,5%; rango, 0 – 80%), y además tiene una alta tasa de mortalidad asociada (mediana del 80%; rango, 44 – 100%)<sup>166</sup>. Posteriormente, Laskin y cols. revisaron los datos publicados en la literatura (entre 2003 y 2011), observando una mediana de respuestas superior, del 59% (rango, 27 – 80%)<sup>135</sup>. En el único estudio prospectivo realizado, Worel y cols. observaron un 64% de respuestas (7/11 pacientes) con la retirada de ciclosporina y el inicio inmediato de los RPT<sup>149</sup>. No obstante, parece ser que la tasa de respuestas podría depender de su inicio inmediato, pero incluso en aquellos en los que se inicia de una manera precoz tras el diagnóstico, sólo la mitad recuperan la función renal y sobreviven<sup>188</sup>.

c) Vincristina:

Según la experiencia de nuestro Servicio, en la que siete pacientes que desarrollaron una MAT-AT entre los años 2002 y 2004, fueron tratados con vincristina (asociada a RPT en los casos más graves) a dosis total de 1 mg/día i.v. (salvo los pacientes más jóvenes, de 6 y 9 años, que recibieron 0,6 y 0,7 mg, respectivamente) los días +1, +4, +8 (y el día +11 en el caso de aquellos que no respondieron a las dosis previas) ofrece buenos resultados<sup>189</sup>. Seis de los siete pacientes respondieron y sólo un paciente falleció debido a complicaciones relacionadas con la MAT-AT. Los otros 6 pacientes alcanzaron una respuesta completa a los 11 días (rango, 7 – 90 días). Tras un seguimiento de 565 días (170 – 1060 días), todos los pacientes que respondieron seguían vivos y en respuesta completa, y no se observó recaída de la MAT-AT<sup>189</sup>. Previamente, sólo dos estudios habían comunicado la combinación de vincristina junto con RPT para el tratamiento de la MAT-AT<sup>190,191</sup>. Silva y cols. observaron una respuesta entre ocho pacientes diagnosticados de MAT-AT<sup>191</sup>, mientras que Daly y cols.

---

trataron con vincristina a 4 de 25 pacientes diagnosticados de MAT-AT, describiendo una tasa de mortalidad del 96% en la serie global<sup>190</sup>.

d) Rituximab:

Rituximab es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 que se ha utilizado con éxito en varios casos clínicos publicados, bien en monoterapia o en combinación con RPT o defibrotide<sup>132,192-194</sup>. No se conoce su mecanismo de acción en la MAT-AT, aunque se sugiere que podría tener su efecto disminuyendo la producción de anticuerpos y en la regulación inmune.

e) Defibrotide:

Defibrotide es un fármaco que *in vitro* es capaz de inhibir la apoptosis endotelial mediada por TNF- $\alpha$ , protegiendo así al endotelio, y también ha mostrado actividad profibrinolítica, antitrombótica, trombolítica y antiinflamatoria<sup>132</sup>. Dado su posible papel protector del endotelio, dos estudios italianos multicéntricos retrospectivos evaluaron su papel en la MAT-AT, observando una tasa de respuestas del 55% (bien en monoterapia o en combinación con otros tratamientos) en pacientes con MAT-AT de alto grado, sin efectos adversos graves documentados<sup>146,195,196</sup>.

f) Nuevas opciones terapéuticas: Eculizumab:

Dado el posible papel del complemento en la fisiopatología de la MAT-AT, el fármaco más prometedor en el momento actual es el inhibidor del complemento eculizumab. Se trata de un anticuerpo monoclonal anti-C5, de este modo se evitaría la formación del complejo de ataque de la membrana C5b-9. Este fármaco ya ha demostrado su eficacia en el SHUa<sup>197</sup>. Por el momento, la experiencia en la MAT-AT se reduce a un número escaso de pacientes<sup>198</sup>. Además su utilización está limitada por la dificultad de alcanzar niveles terapéuticos en receptores e un Alo-TPH en situación crítica, la limitada disponibilidad en algunos países y su elevado coste. En una serie de 6 niños con MAT-AT tratados con eculizumab se observó que necesitaban dosis más elevadas e infusiones más frecuentes que las actualmente recomendadas en el SHUa para alcanzar niveles terapéuticos del fármaco<sup>198</sup>.



## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## **HIPÓTESIS**

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) es, actualmente, el único tratamiento con finalidad curativa disponible en numerosas hemopatías. Sin embargo, está caracterizado por una amplia gama de complicaciones, incluyendo cambios hemostáticos. Los eventos tromboticos post Alo-TPH tienen un espectro clínico variable y se presentan como trombosis venosa, principalmente como trombosis venosa profunda, embolismo pulmonar o trombosis venosa asociada a catéter, microangiopatía trombotica asociada a trasplante (MAT-AT) y trombosis arterial. Recientemente, se ha reconocido que la incidencia de complicaciones tromboembólicas venosas en el Alo-TPH es similar a la incidencia observada en las neoplasias sólidas, por tanto, cabe preguntarse si una profilaxis antitrombotica podría tener sentido en este tipo de pacientes. Sin embargo, hasta ahora, los eventos tromboembólicos (ETEs) se han analizado de forma separada, sin tener en cuenta las complicaciones hemorrágicas del Alo-TPH. Además, aún está por definir el tratamiento antitrombotico óptimo en pacientes con Alo-TPH que sufren un evento tromboembólico venoso (ETEV). La trombocitopenia y el riesgo hemorrágico de esta población especial podrían suponer una limitación para el tratamiento anticoagulante con dosis plenas durante, al menos, tres meses de duración.

La MAT-AT es una entidad con elevada mortalidad que probablemente esté infradiagnosticada. Así, desconocemos la incidencia de la MAT-AT, puesto que varía enormemente de unos estudios a otros, y cuáles son sus factores de riesgo. El papel de algunos de los regímenes de inmunosupresión más activos en prevenir la EICH, tales como la combinación de tacrolimus (TAC) con sirolimus (SIR), en el desarrollo de MAT-AT, está aún por definir.

La identificación de los factores predictores tanto de complicaciones tromboticas como hemorrágicas, así como un análisis de riesgo que tenga en cuenta ambas complicaciones podría ayudar al manejo de los pacientes durante el Alo-TPH. A pesar de la elevada incidencia de ETEs en el Alo-TPH, las complicaciones hemorrágicas pueden ser al menos tan frecuentes como las complicaciones tromboticas, y podrían limitar el uso de fármacos anticoagulantes durante el Alo-TPH. Por otro lado, con respecto a la MAT-AT, es posible que la combinación de TAC/SIR para la profilaxis de EICH no aumente el riesgo de MAT-AT en los receptores de un Alo-TPH, pudiendo verse influido su desarrollo por otros factores de riesgo.

## **OBJETIVOS**

Los objetivos planteados en el presente trabajo son:

Determinar la incidencia, factores de riesgo y mortalidad de los eventos tromboembólicos y hemorrágicos en pacientes sometidos a un Alo-TPH.

Describir el manejo del tratamiento anticoagulante en pacientes sometidos a un Alo-TPH que presentaron un ETE venoso durante el mismo.

Determinar la incidencia, los factores de riesgo y el impacto pronóstico de la MAT-AT en receptores de un Alo-TPH que recibieron profilaxis para EICH con tacrolimus más metotrexato o más sirolimus.



# **MATERIAL Y MÉTODOS**

---



## PARA LOS OBJETIVOS 1 Y 2:

Evaluamos retrospectivamente los pacientes consecutivos (a partir de los 18 años de edad) que recibieron un Alo-TPH entre 1995 y 2012 en la Unidad de Trasplante hematopoyético del Hospital Universitario de Salamanca. Aquellos pacientes que recibieron tratamiento anticoagulante durante la infusión de células progenitoras fueron excluidos. Recogimos los siguientes datos: edad al TPH, sexo, diagnóstico, situación de la enfermedad al momento del trasplante, presencia de factores de riesgo cardiovascular (diabetes, dislipemia, hipertensión e índice de masa corporal), fuente de progenitores hematopoyéticos, histocompatibilidad con el donante, tipo de acondicionamiento y profilaxis para EICH. También se recogieron el desarrollo de complicaciones post-trasplante como la EICH, el síndrome de oclusión sinusoidal (o enfermedad veno-oclusiva hepática) o la MAT-AT<sup>182</sup>.

El tratamiento de acondicionamiento administrado dependió de la enfermedad de base y el tipo de Alo-TPH, y fue dividido según su intensidad en mieloablativo o de intensidad reducida. El día de la infusión de las células progenitoras hematopoyéticas se considera el día 0. La transfusión profiláctica de plaquetas se realizó cuando la cifra de plaquetas era inferior a  $20 \times 10^9/L$ . La profilaxis antibacteriana, antivírica y antifúngica fue administrada según las guías de nuestra institución. Se utilizó ácido ursodeoxicólico (600-900 mg una vez al día por vía oral.) desde el principio del acondicionamiento para prevenir la enfermedad veno-oclusiva hepática.

Los eventos tromboembólicos (ETEs) fueron diagnosticados según métodos estándar y divididos en venosos (ETEV) y arteriales (TEA). Los ETEV se clasificaron como trombosis venosa profunda (TVP), tromboembolismo pulmonar (EP) o trombosis relacionada con el catéter. Los TEAs se clasificaron como síndrome coronario, ictus o arteriopatía periférica.

Cualquier evento hemorrágico tras el Alo-TPH fue recogido, salvo la documentación leve de petequias. Una hemorragia fue considerada mayor si produce una reducción de la hemoglobina de al menos 2 g/dL, precisa transfusión de al menos 2 unidades de concentrados de hematíes, o la hemorragia afecta a un área u órgano crítico. Una hemorragia mayor fue considerada amenazante para la vida si resulta en éxitus, si produce una reducción de la hemoglobina de al menos 5 g/dL, o precisa la transfusión de al menos 4 unidades de concentrados de hematíes, o si se trata de una hemorragia intracraneal o pulmonar sintomática, o aquella hemorragia que produce una hipotensión que requiere agentes

inotrópicos, o la hemorragia que requiere cirugía. El resto de eventos hemorrágicos fueron considerados menores<sup>199</sup>.

En cuanto a otras complicaciones post-trasplante como la EICH<sup>200-202</sup>, infecciones fúngicas o virales, enfermedad veno-oclusiva hepática<sup>203</sup> y la MAT-AT<sup>182</sup> también fueron recogidas y definidas de acuerdo con criterios estándar.

### **PARA EL OBJETIVO 3:**

El tacrolimus fue introducido en nuestra práctica clínica como profilaxis de la EICH en el Alo-TPH de donante no emparentado en el año 2007. El tacrolimus se asoció con metotrexato (TAC/MTX) en los Alo-TPH mieloablativos (MA). Por el contrario, en el contexto del Alo-TPH con acondicionamiento de intensidad reducida (AIR), también se utilizó TAC/MTX hasta Octubre de 2008; posteriormente, se utilizó tacrolimus más sirolimus (TAC/SIR) en el contexto de un ensayo clínico fase II prospectivo multicéntrico (estudio 2007-006416-32 promovido por GEL-TAMO/GETH) hasta Octubre del 2010, y como procedimiento estándar para los pacientes que recibieron un Alo-TPH con AIR después de esa fecha.

Para el presente estudio, analizamos retrospectivamente todos los receptores de un Alo-TPH (a partir de 18 años) que recibieron regímenes basados en tacrolimus para la profilaxis de EICH de manera consecutiva entre Abril de 2007 y Julio de 2012 en nuestra Unidad (n=102). Treinta y cuatro pacientes recibieron la combinación de TAC/MTX y 68 TAC/SIR. Se recogieron las características clínicas, el curso clínico y el desarrollo de EICH así como los niveles séricos de los inmunosupresores. Veintiocho de los 68 pacientes en el grupo que recibió TAC/SIR han sido incluidos en el ensayo clínico fase II, y los resultados ya han sido publicados<sup>155</sup>.

Cribado de MAT-AT: a todos los pacientes se les realizó hemograma y determinación de LDH de forma regular. En aquellos pacientes con un nivel de hemoglobina reducida y/o trombocitopenia inferior a  $50 \times 10^9/L$  o una disminución en el recuento de plaquetas del 50% se realizó frotis de sangre periférica, test de Coombs y la determinación de los niveles de haptoglobina.

El diagnóstico de MAT-AT se realizó de acuerdo a los criterios de MAT-AT probable definidos por el estudio de Cho y cols.<sup>143</sup>: 2 o más esquistocitos por campo en el frotis de sangre periférica, incremento de LDH sérica, cifra de plaquetas por debajo de  $50 \times 10^9/L$ , reducción del nivel de hemoglobina, test de Coombs negativo, nivel de haptoglobina reducido y ausencia de coagulopatía.

## **ASPECTOS ÉTICOS:**

Todos los estudios se realizaron según las directrices de la Declaración de Helsinki y Oviedo. Así mismo, cada paciente firmó un consentimiento informado en el momento de la realización del Alo-TPH para llevar a cabo este tipo de estudios.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

Los datos fueron recogidos en una tabla de Excel (Microsoft) y se realizó un análisis estadístico descriptivo. Los resultados se expresaron como porcentajes para las variables categóricas y medias (y desviación estándar) para las variables continuas. Las diferencias entre los grupos fueron evaluadas mediante el test t de Student, para las variables cuantitativas, y el test chi-cuadrado para las variables categóricas utilizando el programa IBM SPSS Statistics (SPSS, Chicago, IL, USA). La incidencia acumulada de cada evento fue calculada mediante el método Kaplan–Meier. Para identificar los factores de riesgo realizamos un análisis de regresión logística binaria con el método introducir; y las variables que fueron significativas ( $P < 0,05$ ) en el análisis univariante se incluyeron en un modelo multivariante de regresión logística binaria, ajustado por edad y sexo. El test log-rank también se utilizó para identificar factores de riesgo en el tiempo, incluyendo las variables que fueron estadísticamente significativas en el análisis univariante, en un modelo de regresión de Cox con el método de pasos hacia adelante o bien con el método de introducir. La supervivencia global fue definida como el tiempo desde el día 0 del Alo-TPH y el último seguimiento, y fue calculada mediante el método Kaplan–Meier. El test log-rank fue utilizado para establecer las diferencias entre los pacientes que desarrollaron un evento y los que no. Todos los parámetros que fueron estadísticamente significativos en el análisis univariante fueron incluidos en un análisis multivariante, ajustado por edad y sexo, usando el modelo de regresión de Cox con la

selección de pasos hacia adelante. Se estableció la significación estadística de todos los test para valores de  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

---





En este apartado se presentarán las publicaciones a las que ha dado origen la presente tesis doctoral como secciones independientes divididas en cuatro capítulos. Cada capítulo irá precedido de un resumen en castellano (cumpliendo con la normativa de la Universidad de Salamanca) y contendrá tanto la introducción como el material y métodos empleados, los resultados obtenidos y las conclusiones de dichos resultados. El primer capítulo profundiza en la incidencia, factores de riesgo y mortalidad de los eventos tromboembólicos y hemorrágicos en los pacientes sometidos a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH). El segundo capítulo define, específicamente, la incidencia y los factores de riesgo de hemorragia amenazante para la vida tras el Alo-TPH. El tercer capítulo describe el manejo del tratamiento anticoagulante en pacientes sometidos a un Alo-TPH que presentaron una trombosis venosa profunda durante el mismo. Por último, el cuarto capítulo recoge el estudio dirigido a profundizar en el conocimiento de las trombosis de pequeño vaso post Alo-TPH, es decir, en determinar los factores de riesgo de microangiopatía trombótica asociada a trasplante (MAT-AT), con especial atención en el papel de los inhibidores de calcineurina, como tacrolimus, e inhibidores de mTOR, como sirolimus, empleados en la profilaxis para enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda, en el desarrollo de MAT-AT (cuarto capítulo).

## **CAPÍTULO 1:**

Análisis de la incidencia, factores de riesgo y evolución clínica de los eventos tromboembólicos y hemorrágicos en 431 receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. “Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients”. *Haematologica*. 2013 Mar;98(3):437-43.

## **CAPÍTULO 2:**

Incidencia y factores de riesgo de hemorragia amenazante de la vida tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. “Incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic stem cell transplant”. *Br J Haematol*. 2015 Jun;169(5):719-25.

### **CAPÍTULO 3:**

Manejo y evolución de los eventos tromboembólicos venosos no relacionados con el catéter tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. “Management patterns and outcomes in symptomatic non-catheter related venous thromboembolism following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation”. *Submitted for publication.*

### **CAPÍTULO 4:**

Factores de riesgo de microangiopatía trombótica asociada a trasplante en receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos que recibieron profilaxis para enfermedad injerto contra huésped con tacrolimus más metotrexato o con sirolimus. “Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving graft versus host disease prophylaxis with tacrolimus plus methotrexate or sirolimus”. *Bone Marrow Transplant 2014 May;49(5):684-90.*

---

## **ARTÍCULO 1: Análisis de la incidencia, factores de riesgo y evolución clínica de los eventos tromboembólicos y hemorrágicos en 431 receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.**

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS: Los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) tienen un riesgo aumentado de sufrir eventos tromboembólicos (ETEs), ya sean venosos (ETEV) o arteriales (TEA). Por ello, parece razonable plantear estrategias de trombopprofilaxis en pacientes seleccionados. Sin embargo, los escasos estudios disponibles han analizado los ETEs de forma aislada, sin tener en cuenta el elevado riesgo hemorrágico que tienen los receptores de un Alo-TPH, principalmente debido a la trombocitopenia prolongada y el daño tisular causado por el régimen de acondicionamiento o por complicaciones específicas del Alo-TPH. Por ese motivo, dado que no está bien definido el riesgo competitivo entre estos dos tipos de complicaciones potencialmente mortales, nos propusimos determinar la incidencia, los factores de riesgo y el impacto pronóstico de los ETEs y las complicaciones hemorrágicas en esta población tan compleja.

MATERIAL Y MÉTODOS: Analizamos retrospectivamente los datos de 431 receptores de un Alo-TPH (a partir de los 18 años de edad) de manera consecutiva entre 1995 y 2011 en el Hospital Universitario de Salamanca, para identificar la incidencia, los factores de riesgo y la mortalidad de los eventos tromboembólicos y hemorrágicos. Los pacientes que estaban recibiendo profilaxis o tratamiento anticoagulante en el día 0 del Alo-TPH, fueron excluidos.

RESULTADOS: Las complicaciones hemorrágicas clínicamente significativas fueron más frecuentes que los eventos tromboembólicos. La incidencia de ETEV fue del 6% (4,4% desarrollaron una trombosis venosa profunda o un tromboembolismo pulmonar y el 1,6% presentaron una trombosis relacionada con el catéter); y la incidencia de TEA y complicaciones hemorrágicas fue del 2,5% y 32,5 %, respectivamente. La incidencia acumulada de sangrado clínicamente significativo fue del 30,2% a los 14 años. La incidencia acumulada de trombosis venosa y arterial fue de 11,8% y 4,1 respectivamente. La mediana de tiempo desde el Alo-TPH hasta el diagnóstico de ETEV fue de 210 días (rango, 9 - 4080 días), y de 15 días (rango, 2 - 3660 días) hasta el primer episodio hemorrágico.

El desarrollo de enfermedad injerto contra huésped (EICH) crónica fue el único factor de riesgo independiente de trombosis venosa (O.R. = 2,85; I.C. 95%: 1,20 – 6,80). Por el contrario, seis factores se asociaron con un aumento del riesgo de sangrado: enfermedad avanzada, régimen de acondicionamiento mieloablativo, trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical, tratamiento anticoagulante tras el Alo-TPH, desarrollar EICH aguda grado III-IV y microangiopatía trombótica asociada al trasplante.

El desarrollo de trombosis no influyó en la supervivencia global de los pacientes ( $P=0,856$ ). Sin embargo, el sangrado clínicamente significativo se asoció con una menor supervivencia global ( $P<0.001$ ). La mediana de la supervivencia global de los pacientes que presentaron eventos hemorrágicos fue de 15 meses, inferior a la comparada con los pacientes que no presentaron sangrado (122 meses).

CONCLUSIONES: En el Alo-TPH las complicaciones hemorrágicas son más frecuentes que las trombóticas e influyen en la supervivencia global. Hemos identificado nuevos factores predictores para el desarrollo de complicaciones trombóticas y hemorrágicas tras el Alo-TPH. Es de destacar que el tratamiento anticoagulante tras el Alo-TPH se asocia a un mayor riesgo de complicaciones hemorrágicas, por lo que la tromboprolifaxis venosa se debe considerar con precaución, en pacientes seleccionados (como son aquellos con EICH crónica extensa). Sin embargo, puesto que no sabemos la eficacia y seguridad de la anticoagulación en esta población, se necesitan más estudios para poder responder a esta pregunta.

# Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients

Jorge Labrador,<sup>1</sup> Lucia Lopez-Anglada,<sup>1</sup> Estefania Perez-Lopez,<sup>1</sup> Francisco S. Lozano,<sup>2</sup> Lucia Lopez-Corral,<sup>4</sup> Fermin M. Sanchez-Guijo,<sup>1</sup> Lourdes Vazquez,<sup>1</sup> Jose Angel Perez Rivera,<sup>3</sup> Francisco Martin-Herrero,<sup>3</sup> Mercedes Sanchez-Barba,<sup>4</sup> Carmen Guerrero,<sup>5</sup> Maria Consuelo del Cañizo,<sup>1</sup> Maria Dolores Caballero,<sup>1</sup> Jesus Fernando San Miguel,<sup>1</sup> Ignacio Alberca,<sup>1</sup> and Jose Ramon Gonzalez-Porrás<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca; <sup>2</sup>Department of Angiology and Vascular Surgery, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca; <sup>3</sup>Department of Cardiology, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca; <sup>4</sup>Department of Statistics, Universidad de Salamanca, Salamanca; and <sup>5</sup>Medicine Department, IBMCC and IBSAL, Universidad de Salamanca-CSIC, Salamanca, Spain

## ABSTRACT

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients have an increasing risk of both hemorrhagic and thrombotic complications. However, the competing risks of two of these life-threatening complications in these complex patients have still not been well defined. We retrospectively analyzed data from 431 allogeneic transplantation recipients to identify the incidence, risk factors and mortality due to thrombosis and bleeding. Significant clinical bleeding was more frequent than symptomatic thrombosis. The cumulative incidence of a bleeding episode was 30.2% at 14 years. The cumulative incidence of a venous or arterial thrombosis at 14 years was 11.8% and 4.1%, respectively. The analysis of competing factors for venous thrombosis revealed extensive chronic graft-versus-host disease to be the only independent prognostic risk factor. By contrast, six factors were associated with an increased risk of bleeding; advanced disease, ablative conditioning regimen, umbilical cord blood transplantation, anticoagulation, acute III-IV graft-versus-host disease, and transplant-associated microangiopathy. The development of thrombosis did not significantly affect overall survival ( $P=0.856$ ). However, significant clinical bleeding was associated with inferior survival ( $P<0.001$ ). In allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, significant clinical bleeding is more common than thrombotic complications and affects survival.

## Introduction

Allogeneic stem cell transplantation (HSCT) is currently the standard therapy for many hematologic disorders and its use has markedly increased over the past two decades. Graft-versus-host disease (GVHD), infections and relapse are the most common complications of allogeneic HSCT. Recent studies have begun to recognize that allogeneic HSCT recipients are also prone to the complications of a higher rate of thromboembolic events (TEEs) including venous thromboembolism (VTE)<sup>1,2</sup> and arterial events (ischemic stroke, coronary artery disease (CAD) or peripheral artery disease).<sup>3,4</sup> In two recent studies, the 1-year incidences of allogeneic stem cell transplantation-associated VTE were 2.5% and 4.6%.<sup>5,6</sup> The cumulative incidence of arterial events 15 years after allogeneic HSCT was 6%.<sup>4</sup> Factors that have been suggested to increase the risk of VTE in HSCT recipients include indwelling central venous catheters, development of GVHD, and previous VTE.<sup>6</sup> In addition, the occurrence of arterial thrombotic events was significantly higher in HSCT recipients with at least two cardiovascular risk factors.<sup>4</sup>

However, the risk of TEEs in HSCT recipients should be balanced with the risk of hemorrhagic complications. Bleeding is also a highly significant complication of allogeneic

HSCT and has been associated with shorter survival.<sup>7-9</sup> Prolonged thrombocytopenia and HSCT-specific hemorrhagic complications, such as hemorrhagic cystitis, diffuse alveolar hemorrhage, and gastrointestinal GVHD, are strong predictors of bleeding in allogeneic HSCT.<sup>10</sup> Therefore, despite the fact that TEEs occur frequently during the post-transplant period, VTE prophylaxis is not generally used in allogeneic HSCT recipients. In addition, except for one study that simultaneously evaluated bleeding and thrombotic complications in early phases of allogeneic HSCT (<128 days),<sup>6</sup> little is known about the competing risks of thrombosis and bleeding in this complex population. The purpose of this study was to determine the incidence, risk factors and mortality due to TEEs and bleeding in a large series of patients who underwent allogeneic HSCT in a single institution.

## Design and Methods

### Study subjects

Analyses were performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the guidelines of the institutional review board of the Hospital Universitario de Salamanca. This study was approved by the Salamanca University Hospital Ethics Committee. We conducted a retrospective cohort study of 443 consecutive patients (aged over 18

**Table 1.** Baseline characteristics of patients (n=431).

Variable	Total	(1995 - 2004) Years	(2005 - 2011) years	P
Age (median ± SD)	47±13.9	42.3±13.2	47.9±12.4	<0.001
Gender (male / female) (%)	61/39	58.2/41.8	63.4/36.6	0.267
Cardiovascular risk factors				
Hypertension	30 (7)	12 (6.1)	18 (7.7)	0.573
Diabetes	18 (4.2)	6 (3.1)	12 (5.1)	0.340
Dyslipemia	27 (6.3)	7 (3.6)	20 (8.5)	0.045
Body mass index (median ± SD)	24.1±3.8	24.1±3.5	25.3±4.1	0.002
Prior VTE	19 (4.4)	10 (5.1)	9 (3.8)	0.639
Diagnosis				0.009
Acute myeloid leukemia	120 (27.8)	48 (24.5)	72 (30.6)	
Myelodysplastic syndrome	57 (13.2)	27 (13.8)	30 (12.8)	
Non-Hodgkin's lymphoma	57 (13.2)	16 (8.2)	41 (17.4)	
Acute lymphocytic leukemia	56 (13)	28 (14.3)	28 (11.9)	
Multiple myeloma	40 (9.3)	21 (10.7)	19 (8.1)	
Chronic myeloid leukemia	39 (9)	26 (13.3)	13 (5.5)	
Others	62 (14.4)	30 (15.3)	32 (13.6)	
Donor				< 0.001
Related allogeneic	318 (73.8)	173 (88.3)	145 (61.7)	
Unrelated allogeneic	113 (26.2)	23 (11.7)	90 (38.3)	
Stage of the disease				0.212
Low risk	209 (48.5)	96 (49)	113 (48.1)	
Intermediate risk	134 (31.1)	54 (27.6)	80 (34)	
Advanced risk	88 (20.4)	46 (23.5)	42 (17.9)	
Source of stem cell				0.007
Peripheral blood	346 (80.3)	159 (81.1)	187(79.6)	
Bone marrow	67 (15.5)	35 (17.9)	32 (15.5)	
Umbilical cord	18 (4.2)	2 (1)	16 (6.8)	
Conditioning regimen				0.006
RIC	238 (55.2)	94 (48)	144 (61.3)	
Myeloablative	193 (44.8)	102 (52)	91 (38.7)	
Prophylaxis of GVHD				< 0.001
Cyclosporine plus methotrexate	306 (71)	173 (83.2)	135 (60.5)	
Tacrolimus plus rapamycin	38 (9)	0	39 (17.5)	
Cyclosporine plus mycophenolate mofetil	29 (7)	18 (8.6)	12 (5.4)	
Others	62 (12)	10 (4.8)	19 (8.5)	
Complications after HSCT				
Grade III–IV acute GVHD	52 (12.1)	19 (9.7)	33 (14)	0.184
Extensive chronic GVHD	130 (30.2)	78 (48.1)	52 (27.4)	< 0.001
Vein-occlusive disease	26 (6)	24 (12.2)	2 (0.9)	< 0.001
Thrombotic microangiopathy	32 (7.4)	20 (10.2)	12 (5.1)	0.064

VTE: venous thromboembolism; stage of disease: low risk (first complete remission or chronic phase), high risk (relapse or progressive disease, blast crisis) and intermediate risk (all others); RIC: reduced-intensity conditioning; GVHD: graft-versus-host disease; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation.

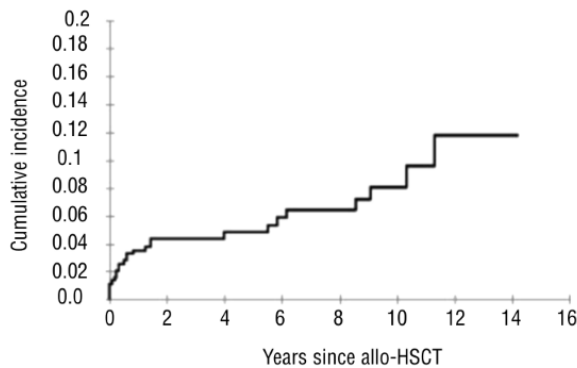
years) who had undergone allogeneic HSCT between 1995 and 2011 at the Hospital Universitario de Salamanca. Twelve patients who received prophylaxis or therapeutic anticoagulation at the time of HSCT admission were excluded. Informed consent was obtained from all patients before HSCT. The main demographic and hematologic features of the 431 evaluable allogeneic HSCT recipients are shown in Table 1. Median age was 47±13 years; 61% of patients were male. Median follow up was 20 months (range 1-137 months). The conditioning regimen was myeloablative (n=193) or reduced-intensity conditioning (RIC) (n=238) (Table 1). The day of stem cell infusion was designated as Day 0. Prophylactic platelet transfusion was given when the platelet count fell below 10×10<sup>9</sup>/L or 10-20×10<sup>9</sup>/L in those with fever (>38°C). Post-HSCT complications, such as GVHD, vein-occlusive disease (VOD) and thrombotic microangiopathy (TMA), were

also recorded. GVHD was defined according to the Seattle criteria for the diagnosis and staging of GVHD.<sup>11</sup> VOD was diagnosed according to the Modified Seattle Criteria.<sup>12</sup> A diagnosis of transplant-associated microangiopathy (TMA) was made in patients with microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, renal failure and high levels of serum lactate dehydrogenase.<sup>13</sup> As our enrollment period was very long (1995-2011), we have addressed any possible change in baseline characteristics of patients over time (1995-2004 vs. 2005-2011). The age of recipients has significantly increased in the second period (42.3 vs. 47.9, *P*<0.001). The number of patients who underwent an unrelated HSCT increased from 11.7% in the period 1995-2004 to 38.3% in 2005-2011, *P*<0.001. Also, a higher proportion of patients receiving non-myeloablative conditioning regimen was also observed in the 2005-2011 period.

**Table 2. Bivariate analysis of factors influencing venous TEEs.**

Variable	Odds ratio	95% CI	P
Age < 45 years	1.15	(0.51–2.58)	0.720
Male	0.68	(0.38–1.92)	0.720
Advanced disease	0.92	(0.33–2.52)	0.877
Diabetes pre-HSCT	0.00	–	0.998
Hypertension pre-HSCT	0.51	(0.07–3.96)	0.519
Dyslipemia pre-HSCT	0.58	(0.07–4.47)	0.604
BMI > 25	1.69	(0.74–3.88)	0.210
Prior VTE	1.90	(0.41–3.88)	0.408
Ablative conditioning regimen*	0.75	(0.33–1.71)	0.505
Grade III–IV acute GVHD**	0.94	(0.27–3.27)	0.932
Extensive chronic GVHD***	2.85	(1.20–6.80)	0.018
Occlusive vein disease	1.32	(0.29–5.93)	0.715
Thrombotic microangiopathy	1.04	(0.23–4.62)	0.408

TEEs: thromboembolic events; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; BMI: body mass index; VTE: venous thromboembolism; GVHD: graft-versus-host disease. \*compared with RIC conditioning regimen; \*\*compared with non-acute GVHD; \*\*\*compared with non-chronic GVHD.



**Figure 1.** Cumulative incidence of a venous TEE was 3.6% (95% CI: 2.2–5.9%; 256 patients at risk) at 1 year, 4.8% (95% CI: 3.1–7.5%; 104 patients) at 5 years, 8.1% (95% CI: 5.2–12.6%; 37 patients) at 10 years, and 11.8% (95% CI: 7.1–19.6%; 3 patients) at 14 years.

### Indwelling central venous catheters

A central venous catheter (CVC), a triple-lumen catheter or a double-lumen Hickman was routinely implanted before infusion of stem cells. No systemic prophylaxis against deep-vein thrombosis was adopted. Each lumen of CVC was washed with 20 mL normal sterile saline and 5 mL heparinized saline (50 IU/mL) according to routine clinical practice. The CVC was removed when the patient was discharged after HSCT whilst the Hickman line was maintained until the development of complications that prompted catheter removal.

### Outcomes

The primary end points of the study were the incidence, risk factors and clinical impact of post-allogeneic HSCT TEEs and hemorrhages. TEEs were subdivided into venous and arterial types. Venous TEEs were classified as deep venous thrombosis (DVT), pulmonary embolism (PE) or catheter-related venous thrombosis. The diagnosis of DVT was considered valid by venography or compression ultrasonography, according to stan-

dard methods. Pulmonary embolism was only accepted if it was demonstrated by perfusion lung scan or computerized tomography. The diagnosis of catheter-related venous thrombosis was defined as the partial or total occlusion of a vein into which a CVC had been inserted, or a DVT confirmed within 30 days of CVC removal by ultrasonography or phlebography. Arterial TEEs were classified as coronary artery disease (CAD), ischemic stroke or peripheral arterial disease, and diagnosed according to standard objective methods. Any bleeding event after allogeneic HSCT was included in the analysis, with the exception of mild petechiae. The number and location of bleeding sites were recorded. Bleeding was considered a major event if it conditioned a reduction in the hemoglobin level of at least 20 g/L, transfusion of at least two blood-pack units, or symptomatic bleeding in a critical area or organ. Transfusion events due to aplasia post chemotherapy were not included. Major bleeding was considered to be life-threatening if it resulted in: fatality, symptomatic intracranial or pulmonary bleeding, bleeding with a decrease in the hemoglobin level of at least 50 g/L, or bleeding requiring transfusion of at least four red blood-cell units or inotropic agents, or if surgery was required. All other bleeding was considered to be minor.

### Statistical analysis

Data were initially included in an Excel (Microsoft) spreadsheet and a descriptive statistical analysis was performed. Results are expressed as percentages for categorical variables and as medians (and standard deviations) for continuous variables. Differences between groups were evaluated with SPSS 19.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Separate logistical regressions were performed using the backward conditional variable selection method to identify risk factors for the development of TEEs and bleeding. Variables associated with TEEs or bleeding in the bivariate analyses were included in the multivariate models. Cumulative incidence of vascular complications was estimated with death without a vascular event as the competing risk. Overall survival (OS) was defined as the time elapsed between HSCT Day 0 and death or last follow up, and calculated by the Kaplan-Meier method. The log rank test was used to assess differences between groups of patients with or without thrombosis, or patients with or without bleeding. Multivariate survival analysis involved developing Cox's proportional hazards models with stepwise variable selection. All the parameters that were significant in the univariate analyses were included in the multivariate analysis.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### Incidence and risk factors of post-allogeneic HSCT venous TEEs

A total of 26 patients (6.03%) experienced a venous TEE after their allo-HSCT. The median time from HSC administration to diagnosis of venous TEEs was 211 days (range 9–4080 days). There were 16 venous TEEs episodes during 1995–2004 and 10 venous TEEs events during the period 2005–2011 ( $P = 0.09$ ). The cumulative incidence of post-allogeneic HSCT venous TEEs was 11.8% (95% CI: 7.1–19.6%) at 14 years (Figure 1). Nineteen patients (4.4%) developed a venous TEE unrelated to a CVC (11 DVTs, 5 DVTs with EP and 3 isolated PEs). Catheter-related venous thrombosis was present in 7 patients (1.6%). Anticoagulation therapy consisted of therapeutic low molecular weight heparin (LMWH) in 17 patients, and LMWH followed by acenocumarol with a target international normalized ratio of 2–3 in 7 patients. LMWH was

**Table 3. Bleeding episodes after HSCT.**

Location	Number (%)	Minor	Severity of bleeding	
			Non-life-threatening	Major Life-threatening
Genitourinary	45 (32.1%)	28	15	2
Gastrointestinal	32 (22.9%)	14	8	10
Mucosal	18 (12.9%)	14	2	2
Pulmonary	16 (11.4%)	–	–	16
Central nervous system	12 (8.6%)	–	–	12
Gynecological	6 (4.3%)	4	2	–
Others	11 (7.8%)	7	2	2
<b>Total</b>	<b>140 (100%)</b>	<b>67</b>	<b>29</b>	<b>44</b>

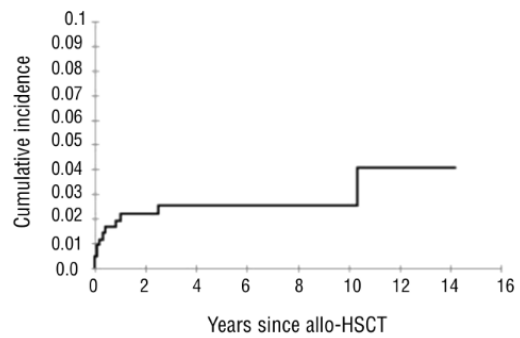
not prescribed after CVC withdrawal in 2 patients with catheter-related venous thrombosis. The anticoagulant treatment was continued as long as it was clinically indicated. One patient with massive PE died. At the time of analysis, 5 patients (19.2%) had developed one episode of documented recurrent venous thrombosis. Table 2 shows the bivariate analysis factors for venous TEEs. The development of extensive chronic GVHD was the only risk factor for the occurrence of venous TEEs post-allogeneic HSCT (OR 2.85; 95% CI: 1.20-6.80).

**Incidence and risk factors of post-allogeneic HSCT arterial TEEs**

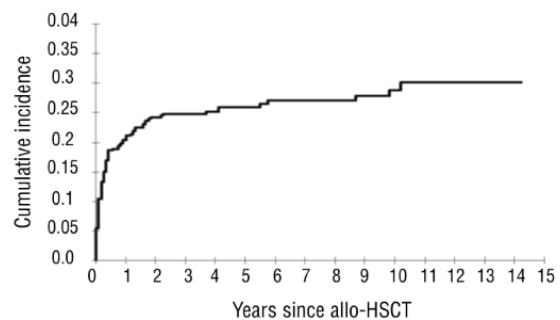
Eleven of the 431 (2.5%) patients had an arterial TEE after allogeneic HSCT (8 CAD and 3 ischemic strokes). The cumulative incidence of post-allogeneic HSCT arterial TEEs was 4.1% (95% CI: 1.8-9.3%) at 14 years (Figure 2). One patient with CAD and 2 patients with ischemic stroke were treated with acenocumarol (target INR between 2 and 3) and the 3 patients with stroke received antiplatelet agent. Two patients died because of CAD. Only a trend towards a higher rate of arterial events was observed for patients with a BMI greater than 25 (OR 2.85; 95% CI: 0.81-12.34; *P*=0.098).

**Incidence and risk factors of post-allogeneic HSCT bleeding**

In total, 140 hemorrhagic events occurred in 111 patients. The median time until the first bleeding episode was 60 days (range 2-3,660 days). The cumulative incidence of bleeding in allogeneic HSCT recipients was 30.2% (95% CI: 25.2-36.2%) at 14 years (Figure 3); 26.1% of bleeding episodes occurred during 1995-2004 and 22% in 2005-2011 (*P*=0.741). The majority of patients experienced bleeding at a single site with very few patients (*n*=25) bleeding from more than two locations. Genitourinary bleeding was the most common site for hemorrhagic complications in allogeneic HSCT recipients (32%) (Table 3), followed by gastrointestinal bleeding (22.9%). With respect to severity of hemorrhage, 73 of the bleeding events (52%) were considered major bleeding and 44 bleeding episodes (31.4%) were life-threatening events. The majority of life-threatening bleedings affected either the lungs (*n*=16), the gastrointestinal (GI) tract (*n*=10) or the central nervous system (CNS) (*n*=12). Twenty deaths were directly attributable to bleeding. Thirty-eight (8.8%) patients developed thrombotic and



**Figure 2.** The cumulative incidence of an arterial TEEs was 2.2% (95% CI: 1.1-4.2%; 256 patients at risk) at 1 year, 2.5% (95% CI: 1.4-4.7%; 104 patients) at 5 years, and 4.1% (95% CI: 1.8-9.3%; 3 patients) at 14 years.



**Figure 3.** The cumulative incidence of a bleeding episode was 21.3% (95% CI: 17.7-25.5%; 237 patients at risk) at 1 year, 26.1% (95% CI: 22.1-30.8%; 100 patients) at 5 years, 28.9% (95% CI: 24.3-34.4%; 34 patients) at 10 years, and 30.2% (95% CI: 25.2-36.2%; 3 patients) at 14 years.

bleeding complications. Table 4 shows the univariate and multivariate analyses carried out to identify the variables capable of predicting bleeding episodes after allogeneic HSCT. Advanced disease, ablative conditioning regimen, use of ATG, umbilical cord transplantation, severe thrombocytopenia (platelet count < 20x10<sup>9</sup>/L) after Day + 28, use of anticoagulation treatment after HSCT, grade III-IV acute GVHD and TMA were significantly associated with hemorrhagic complications in the univariate analysis. In multivariate analyses, six variables retained their association with bleeding events: advanced disease, ablative conditioning regimen, umbilical cord blood transplantation, anticoagulation after HSCT, grade acute III-IV GVHD and TMA. Interestingly, 10 of 111 patients (9%) had a late bleeding event (one year after HSCT). In this subgroup of patients, we analyzed the risk factors for bleeding. The use of anticoagulant therapy (*P*=0.003) and severe thrombocytopenia after Day 28 (*P*=0.004) were the risk factors associated to late bleeding.

**Prognostic impact of bleeding and TEEs following allogeneic HSCT**

The presence of hemorrhagic complications after HSCT was associated with an adverse outcome when compared with patients without bleeding episodes. Median OS of



**Table 4.** Univariate and multivariate analysis of factors influencing bleeding episodes.

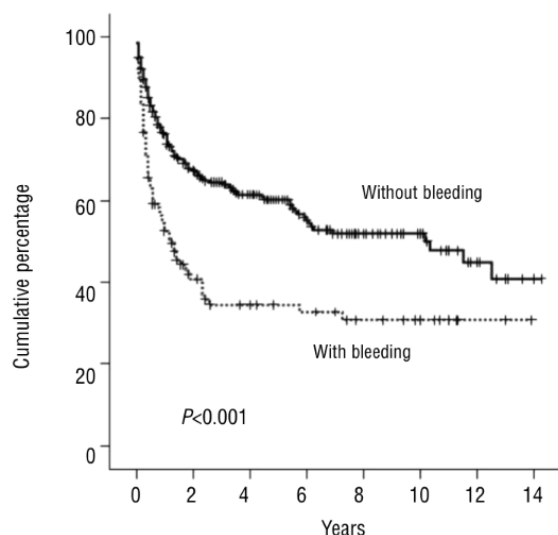
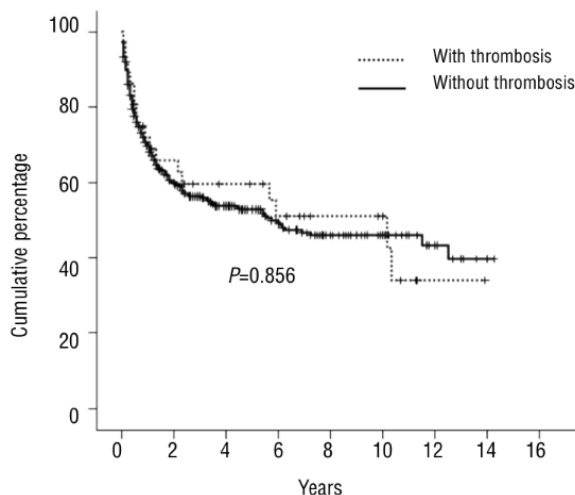
Variable	Univariate P	Multivariate P	Odds Ratio (95% CI)
Age < 45 years	0.109	0.823	0.93 (0.53–1.63)
Male	0.952	0.882	0.96 (0.59–1.55)
Advanced disease	0.046	0.033	1.83 (1.04–3.21)
Ablative conditioning regimen	0.007	0.018	2.02 (1.13–3.61)
Use of ATG	0.012	0.693	–
Umbilical cord transplantation *	<0.0001	0.027	3.53 (1.15–10.79)
Severe thrombocytopenia after Day 28	0.002	0.237	–
Anticoagulation after HSCT	0.026	0.009	2.75 (1.29–5.86)
Grade III–IV acute GVHD **	0.002	0.017	2.23 (1.15–4.32)
Extensive chronic GVHD ***	0.116	–	–
Occlusive vein disease	0.547	–	–
Thrombotic microangiopathy	<0.0001	<0.0001	3.44 (1.54–7.66)

ATG: antithymocyte globulin; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; severe thrombocytopenia when platelet count  $<20 \times 10^9/L$ ; GVHD: graft-versus-host disease. \*Compared with bone marrow stem cells; \*\*compared with non-acute; GVHD; compared with non-chronic GVHD.

patients with bleeding episodes was 15 months, which was significantly lower than patients without bleeding episodes (Kaplan-Meier estimate 122 months; log rank test  $P < 0.001$ ) (Figure 4). In the multivariate analysis, bleeding events after allogeneic HSCT retained their independent prognostic influence (HR 3.34; 95% CI: 2.44–4.58) (Table 5). TMA was the strongest determinant of bleeding in our series and patients who developed TMA had a significantly shorter survival (log rank test  $P < 0.001$ ). But when TMA was included in the multivariate model, it did not remain an independent prognostic factor as it was superseded by the negative prognostic effect of grade III–IV acute GVHD. No statistical differences were identified in overall survival between patients with early and late bleeding events. Finally, there was no significant difference in OS between allogeneic HSCT recipients with or without TEEs (Kaplan-Meier estimate; log rank test  $P = 0.856$ ) (Figure 5).

## Discussion

In recent years, it has begun to be recognized that the incidence of TEEs in patients who have undergone allogeneic HSCT is similar to that observed in patients with solid tumors.<sup>14</sup> In this setting, a thromboprophylaxis strategy could be effective in preventing TEEs in selected allogeneic HSCT recipients. However, TEEs have been separately analyzed without taking into consideration the increasing risk of bleeding in allogeneic HSCT recipients. Here, we report the largest study to date of the competing risks of thrombosis and bleeding in allogeneic HSCT. Our results showed that the cumulative incidence of bleeding

**Figure 4.** Overall survival of patients with and without bleeding after allogeneic HSCT.**Figure 5.** Overall survival of patients with and without thrombosis after allogeneic HSCT.

complications was higher than TEE. In addition, hemorrhagic complications were of significant independent prognostic value for OS on multivariate analysis, while TEE events were not.

In our series, the cumulative incidence of venous TEEs at 14 years was 11.8%. Similar incidences (3.7–14.6%) have been reported in other studies.<sup>2,5,6</sup> Interestingly, 11 of 26 symptomatic VTE episodes occurred after one year of allogeneic HSCT. This indicates that allogeneic HSCT recipients have a similar risk of VTE in the early and late post-HSCT periods. In our series, the development of extensive chronic GVHD was the most important predictor of VTE, which is in agreement with two other studies.<sup>6,15</sup> Pihusch *et al.* confirmed a higher incidence of VTE in patients with chronic GVHD<sup>2</sup> with a limited follow up ( $<1$

**Table 5. Multivariate analysis of factors influencing overall survival.**

Variable	P-Univariate	Hazard ratio	95% CI	P
Age, <45 years	0.950	0.76	(0.57–1.03)	0.078
Male	0.026	0.90	(0.67–1.20)	0.460
Bleeding	0.000	3.34	(2.44–4.58)	0.000
Advanced disease	0.000	1.85	(1.34–2.54)	0.000
Ablative conditioning regimen	0.560	–	–	–
Use of ATG	0.179	–	–	–
Stem cell umbilical cord	0.002	2.31	(1.28–4.17)	0.000
Severe thrombocytopenia after Day 28	0.067	–	–	–
Anticoagulation after HSCT	0.396	–	–	–
Grade III–IV acute GVHD	0.000	1.98	(1.36–2.87)	0.000
Extensive chronic GVHD	0.067	–	–	–
Occlusive vein disease	0.014	1.69	(1.05–2.72)	0.031
Thrombotic microangiopathy	0.003	1.38	(0.86–2.22)	0.185

year). We have identified that the risk of VTE in GVHD was due to the development of extensive chronic GVHD. As chronic GVHD can occur for several years after HSCT, the risk of VTE would remain more than one year of allogeneic HSCT. VTE prophylaxis may be useful in extensive chronic GVHD. However, well-designed clinical trials to evaluate the risks and benefits of VTE prophylaxis in this population are needed. Over recent years, we have observed an increase in the median age of allogeneic transplant patients with the introduction of RIC regimens. An increase in unrelated and cord blood transplants has also been observed. These trends observed in our center are quite similar to those reported by the EBMT registry.<sup>16</sup> However, our rate of bleeding/thrombotic complications has not changed over time.

The mechanism of thrombogenesis in allogeneic HSCT recipients who develop GVHD is uncertain. Release of cytokines involved in the pathophysiology of GVHD may be associated with a higher risk of VTE. Necrosis factor- $\alpha$  can modulate the endothelial hemostatic function by increasing levels of prothrombotic plasminogen activator inhibitor I or tissue factor and by decreasing those of antithrombotic factors, such as the tissue factor pathway inhibitor.<sup>2</sup> Increasing circulating microparticles released after intensive cell activation<sup>2</sup> could also contribute to the higher risk of VTE in GVHD.

The development of arterial thrombosis after HSCT has been of increasing concern during recent years. We found a cumulative incidence of arterial TEEs of 4.1% at 14 years. This is coincidental with two recent studies in which allogeneic HSCT recipients had a higher risk of premature arterial vascular disease.<sup>3,4</sup> In these studies, the presence of cardiovascular risk factors was associated with higher incidences of arterial thrombosis. We found a trend towards developing arterial events in subjects with a BMI over 25.

This study illustrates that, although thrombosis is a significant problem in patients with allogeneic HSCT, it is not associated with increased mortality. In line with these results, patients on AML<sup>17</sup> or with MM treated with lenalidomide<sup>18</sup> who developed a VTE did not have shorter overall survival. In contrast, the development of thrombosis in solid tumors is associated with increased mortality.<sup>19</sup> In solid tumors, the development of venous thromboem-

bolism suggests the presence of aggressive disease. A hypercoagulable state induced by tissue factor can be crucial for metastasis.<sup>20</sup> However, in allogeneic HSCT the hypercoagulable state would not be an important factor influencing aggressiveness.

Bleeding was more frequent than clinical thrombosis and was associated with increased mortality. However, we should take into account a possible limitation to our study since it is likely that thrombosis was not always detected (subclinical or asymptomatic), and that bleeding could be over-estimated (although we have tried to exclude transfusions due to pancytopenia).

The risk of death is higher in allogeneic HSCTs with symptomatic bleeding than in those without bleeding. The cumulative incidence of bleeding in our study is quite similar to that found by other authors.<sup>6,7,9</sup> Recent data suggest that the excess bleeding risk after allogeneic HSCT is restricted to patients developing GVHD, and that patients without GVHD are not at increased risk of bleeding.<sup>2</sup> We have clarified that severe acute GVHD is responsible for increased risk of bleeding. Cumulative endothelial and epithelial damage through immunological injury to the vasculature could explain the risk of bleeding in GVHD.<sup>21</sup> We found that symptomatic bleeding can also occur in situations other than acute GVHD, such as thrombotic microangiopathy. Also, situations involving a pancytopenic period as a more intense myeloablative conditioning, and umbilical cord stem cell transplantation were predictors of bleeding.

In conclusion, in this study, which has the longest follow up to date of patients undergoing allogeneic HSCT, the incidence of VTE was relatively high during early and late phases of HSCT, but did not influence survival. Extensive chronic HSCT was the most important risk factor. In contrast, bleeding was more frequently associated with increased mortality. The principal risk factors for bleeding are myeloablative conditioning, umbilical cord blood transplantation, severe thrombocytopenia after Day 28 and development of grade III-IV acute GVHD or TMA.

#### Authorship and Disclosures

Information on authorship, contributions, and financial & other disclosures was provided by the authors and is available with the online version of this article at [www.haematologica.org](http://www.haematologica.org).

## References

1. Tsakiris DA, Tichelli A. Thrombotic complications after haematopoietic stem cell transplantation: Early and late effects. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2009;22(1):137-45.
2. Pihusch R, Salat C, Schmidt E, Göhring P, Pihusch M, Hiller E, et al. Hemostatic complications in bone marrow transplantation: A retrospective analysis of 447 patients. *Transplantation.* 2002;74(9):1303-9.
3. Tichelli A, Bucher C, Rovó A, Stussi G, Stern M, Paulussen M, et al. Premature cardiovascular disease after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2007;110(9):3463-71.
4. Tichelli A, Passweg J, Wójcik D, Rovó A, Harousseau JL, Masszi T, et al. Late cardiovascular events after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective multicenter study of the Late Effects Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica.* 2008;93(8):1203-10.
5. Gonsalves A, Carrier M, Wells PS, McDiarmid SA, Huebsch LB, Allan DS. Incidence of symptomatic venous thromboembolism following hematopoietic stem cell transplantation. *J Thromb Haemost.* 2008;6(9):1468-73.
6. Gerber DE, Segal JB, Levy MY, Kane J, Jones RJ, Streiff MB. The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood.* 2008;112(3):504-10.
7. Nevo S, Vogelsang GB. Acute bleeding complications in patients after bone marrow transplantation. *Curr Opin Hematol.* 2001;8(5):319-25.
8. Bacigalupo A. Haemopoietic stem cell transplants: the impact of haemorrhagic complications. *Blood Rev.* 2003;17(1 Suppl):S6-10.
9. Pihusch M. Bleeding complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Semin Hematol.* 2004;41(1 Suppl):93-100.
10. Graf L, Stern M. Acute phase after haematopoietic stem cell transplantation. Bleeding and thrombotic complications. *Hamostaseologie.* 2012;32(1):1-7.
11. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man: a long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med.* 1980;69(2):204-17.
12. Jones RJ, Lee KS, Beschoner WE, Vogel VG, Grochow LB, Braine HG, et al. Venocclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1987;44(6):778-83.
13. Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ, Clark RE, George JN, Gratwohl A, et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *European Group for Blood and Marrow Transplantation; European LeukemiaNet. Haematologica.* 2007;92(1):95-100.
14. Falanga A, Marchetti M. Venous thromboembolism in the hematologic malignancies. *J Clin Oncol.* 2009;27(29):4848-57.
15. Stoffel N, Rysler C, Buser A, Gratwohl A, Tsakiris DA, Stern M. Leukocyte count and risk of thrombosis in patients undergoing haematopoietic stem cell transplantation or intensive chemotherapy. *Thromb Haemost.* 2010;103(6):1228-32.
16. Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A, Bregni M, Cesaro S, Dreger P, et al. The EBMT activity survey: 1990-2010. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47(7):906-23.
17. Ku GH, White RH, Chew HK, Harvey DJ, Zhou H, Wun T. Venous thromboembolism in patients with acute leukemia: incidence, risk factors, and effect on survival. *Blood.* 2009;113(17):3911-7.
18. Zangari M, Tricot G, Polavaram L, Zhan F, Finlayson A, Knight R, et al. Survival effect of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and high-dose dexamethasone. *J Clin Oncol.* 2010;28(1):132-5.
19. Sørensen HT, Møller-Jensen L, Olsen JH, Baron JA. Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2000;343:1846-50.
20. Ruf W, Mueller BM. Thrombin generation and the pathogenesis of cancer. *Semin Thromb Hemost.* 2006;32(1 Suppl):61-8.
21. Dumler JS, Beschoner WE, Farmer ER, Di Gennaro KA, Saral R, Santos GW. Endothelial-cell injury in cutaneous acute graft-versus-host disease. *Am J Pathol.* 1989;135(6):1097-103.



---

## **ARTÍCULO 2: Incidencia y factores de riesgo de hemorragia amenazante de la vida tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.**

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS: Las complicaciones hemorrágicas son frecuentes tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) y podrían afectar la supervivencia. Además, el pronóstico adverso de las complicaciones hemorrágicas tras el Alo-TPH podría estar relacionado con la gravedad del sangrado. Sin embargo, el riesgo de hemorragia amenazante de la vida tras el Alo-TPH no está bien definido. El objetivo de este estudio fue determinar la incidencia y los factores de riesgo de hemorragia amenazante para la vida tras el Alo-TPH.

MATERIAL Y MÉTODOS: Evaluamos retrospectivamente 491 pacientes (a partir de los 18 años de edad) que recibieron de manera consecutiva un Alo-TPH entre 1995 y 2012 en el Hospital Universitario de Salamanca. Definimos hemorragia amenazante para la vida si resultó en: éxitus, sangrado intracraneal o pulmonar sintomático, sangrado con una reducción de hemoglobina de al menos 50 g/l, o aquel sangrado que requiera de al menos 4 concentrados de hematíes, drogas vasoactivas o cirugía.

RESULTADOS: Con una mediana de seguimiento de 33 meses, 126 de los 491 pacientes presentaron algún evento hemorrágico (25,7%), y 46 pacientes desarrollaron un episodio de hemorragia con compromiso vital (9,4%). La incidencia acumulada de hemorragia amenazante para la vida fue del 14,6% a los 10 años. El pulmón y el tubo digestivo fueron las localizaciones más frecuentes de hemorragia amenazante para la vida, seguidas del sistema nervioso central. En el análisis multivariante, la presencia de trombocitopenia grave tras el día +28, el desarrollo de enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda grado III – IV y de microangiopatía trombótica asociada al trasplante (MAT-AT) se asociaron al desarrollo de hemorragia con compromiso vital. La supervivencia global a los 3 años entre los pacientes sin episodios hemorrágicos fue del 67,1%, mientras que fue del 17,1% en aquellos que desarrollaron una hemorragia amenazante para la vida ( $P < 0,001$ ).

CONCLUSIONES: Las hemorragias amenazantes para la vida son frecuentes tras el Alo-TPH. La presencia de trombocitopenia grave prolongada, EICH agudo grado III – IV y MAT-AT se asociaron a su desarrollo.



# Incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic stem cell transplant

Jorge Labrador,<sup>1,2,3</sup> Lucia López-Corral,<sup>1</sup> Lourdes Vazquez,<sup>1</sup> Fermin Sánchez-Guijo,<sup>1</sup> Carmen Guerrero,<sup>3</sup> Mercedes Sánchez-Barba,<sup>4</sup> Francisco S. Lozano,<sup>5</sup> Ignacio Alberca,<sup>1</sup> María C. del Cañizo,<sup>1,3</sup> Dolores Caballero<sup>1</sup> and Jose R. González-Porras<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca, <sup>2</sup>Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Burgos, Burgos, <sup>3</sup>Centro de Investigación del Cáncer, IBMC Departamento de Medicina, USAL, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), <sup>4</sup>Departamento de Estadística, Universidad de Salamanca, and <sup>5</sup>Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain

Received 17 November 2014; accepted for publication 5 January 2015

Correspondence: Jorge Labrador, Department of Haematology, IBSAL – Hospital Universitario de Salamanca, Paseo de San Vicente s/n, 37007 Salamanca, Spain.  
E-mail: jorge\_labrador@hotmail.com

## Summary

Bleeding is a frequent complication after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and may affect survival. The purpose of this study was to determine the incidence and risk factors for life-threatening bleeding after HSCT by retrospective evaluation of 491 allogeneic HSCT recipients. With a median follow-up of 33 months, 126 out of 491 allogeneic HSCT recipients experienced a haemorrhagic event (25.7%) and 46 patients developed a life-threatening bleeding episode (9.4%). Pulmonary and gastrointestinal bleeding were the most common sites for life-threatening bleeding, followed by central nervous system. In multivariate analyses, the presence of severe thrombocytopenia after day +28 and the development of grade III–IV acute graft-versus-host disease (GVHD) or thrombotic microangiopathy (TMA) retained their association with life-threatening bleeding events. The overall survival at 3 years among patients without bleeding was 67.1% for only 17.1% for patients with life-threatening bleeding ( $P < 0.001$ ). In conclusion, life-threatening bleeding is a common complication after allogeneic HSCT. Prolonged severe thrombocytopenia, acute grade III–IV GVHD and TMA were associated with its development.

**Keywords:** graft-versus-host disease, haematopoietic stem cell transplantation, haemorrhage, risk factors, thrombocytopenia.

Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the curative therapy for many haematological disorders and its use has increased markedly over the past two decades. Graft-versus-host disease (GVHD), infection and recurrent malignancy are the most common complications of allogeneic HSCT. However, recent studies have recognized that one-third of allogeneic HSCT recipients suffer at least one bleeding episode (Nevo *et al*, 1998, 1999; Pihusch *et al*, 2002; Bacigalupo, 2003; Labrador *et al*, 2013).

Prolonged severe thrombocytopenia and tissue damage, caused by conditioning regimen or post-transplant complications, leads to a more pronounced bleeding tendency among allogeneic HSCT recipients (Nevo *et al*, 1999; Pihusch *et al*, 2002; Bacigalupo, 2003; Pihusch, 2004; Gerber *et al*, 2008; Holler *et al*, 2009; Labrador *et al*, 2013).

Moreover, haemorrhagic complications may have an adverse effect on overall survival in these patients (Nevo *et al*, 1998, 1999, 2007; Bacigalupo, 2003; Holler *et al*, 2009; Labrador *et al*, 2013). Identification of patients at risk of life-threatening bleeding (i.e. where the patient is at immediate risk of dying) and successful management of bleeding following stem cell transplants is essential in order to achieve and maintain a favourable outcome. Although several risk factors for developing any bleeding episodes in this setting have been identified, clinical variables for developing life-threatening bleeding after allogeneic HSCT have not yet been identified.

The purpose of this study was to determine the incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic HSCT.

## Subjects and methods

### Subjects

Analyses were performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the guidelines of the institutional review board of the Hospital Universitario de Salamanca. This study was approved by the Salamanca University Hospital Ethics Committee. We conducted a retrospective cohort study of all consecutive patients (aged >18 years) who had undergone allogeneic HSCT between 1995 and 2012 at the Hospital Universitario de Salamanca. The conditioning regimen provided was appropriate to the primary disease and type of transplant and could be divided into a myeloablative regimen and reduced-intensity conditioning (RIC). Prophylactic platelet transfusion was given when the platelet count fell below  $10 \times 10^9/l$  or  $10\text{--}20 \times 10^9/l$  in those with fever ( $>38^\circ\text{C}$ ). In the absence of complications, patients were discharged from the hospital once stem cell engraftment had been achieved. All bleeding events after allogeneic HSCT were recorded; only documentation of isolated mild petechiae was excluded from our analysis. Other post-HSCT complications, such as infections, GVHD, veno-occlusive disease (VOD) and thrombotic microangiopathy (TMA), were also recorded. GVHD was defined by clinicopathological criteria for the diagnosis and staging of the condition (Shulman *et al*, 1980; Przepiorka *et al*, 1995; Filipovich *et al*, 2005). VOD was diagnosed according to the Modified Seattle Criteria (Jones *et al*, 1987). A diagnosis of TMA was made in patients with microangiopathic haemolytic anaemia, thrombocytopenia and high levels of serum lactate dehydrogenase (Labrador *et al*, 2014).

### Outcomes

The primary end-points of the study were the incidence, risk factors and clinical impact of post-allogeneic HSCT life-threatening haemorrhages. The location and number of bleeding sites were recorded. Bleeding was considered a major event if it caused a reduction in the haemoglobin level of at least 20 g/l, transfusion of at least two of blood, or symptomatic bleeding in a critical area or organ. Transfusion events due to aplasia post-chemotherapy were not included. Major bleeding was considered to be life-threatening if it resulted in death, symptomatic intracranial or pulmonary bleeding, bleeding with a decrease in the haemoglobin level of at least 50 g/l, or bleeding requiring transfusion of at least 4 units of blood, inotropic agents or necessitating surgery. All other bleeding was considered to be minor. Mild petechiae were not included in the analysis.

### Statistics

A descriptive statistical analysis was performed after compiling the data in an Excel (Microsoft) spreadsheet. Results were expressed as percentages for categorical variables and as

medians (and standard deviations) for continuous variables. Differences between groups were evaluated by Student's *t*-test and Mann–Whitney *U*-test for normally and non-normally continuous variables, respectively, and the chi-squared-test for categorical variables, using IBM SPSS Statistics 19.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). The incidence of life-threatening bleeding and the overall survival were calculated using the Kaplan–Meier method. The two-sided log-rank test was used to identify risk factors for developing life-threatening bleeding and to compare survival curves. All the parameters that were significant in univariate analyses, age and gender were included in a multivariate analysis using Cox proportional hazard models. Statistical significance of all tests was accepted for values of  $P < 0.05$ .

## Results

### Baseline characteristics of patients

The main demographic and haematological features of the 491 evaluable allogeneic HSCT recipients are shown in Table I. The mean age was  $46 \pm 13$  years, and 61% of patients were male ( $n = 300$ ). 353 patients (72%) received an allogeneic HSCT from a related donor. Most patients (81.7%) received a peripheral blood stem cell transplant and 279 patients (56.8%) received RIC. The main complications following HSCT are shown in Table I.

### Incidence of fatal bleeding after allogeneic HSCT

With a median follow-up of 33 months (range, 1–171 months), 126 out of 491 allogeneic HSCT recipients experienced a haemorrhagic event (25.7%), and 46 patients experienced a life-threatening bleeding episode (9.4%), representing 36.5% of all bleeding patients. The cumulative incidence of life-threatening bleeding in allogeneic HSCT recipients was 14.6% at 10 years (Fig 1), although most of them ( $n = 42$ ) occurred within 2 years post-HSCT. Pulmonary bleeding was the most common site for life-threatening bleeding in allogeneic HSCT recipients ( $n = 16$ , 34.8%) (Table II), followed by the gastrointestinal tract ( $n = 14$ , 30.4%), central nervous system ( $n = 12$ , 26.1%) and other locations ( $n = 4$ , 8.7%).

### Risk factors for life-threatening bleeding development after allogeneic HSCT

Table III shows the results of the univariate and multivariate analyses carried out to identify the variables capable of predicting life-threatening bleeding episodes after allogeneic HSCT. Advanced stage, allo-HSCT from unrelated donor, GVHD prophylaxis other than calcineurin inhibitors (cyclosporin or tacrolimus) plus methotrexate, use of antithymocyte globulin, umbilical cord transplantation, severe thrombocytopenia (platelet count  $<20 \times 10^9/l$ ) after day +28, grade III–IV acute GVHD and TMA were significantly



**Table I.** Baseline characteristics of patients and main complications after HSCT ( $n = 491$ ).

Variable	Total	Life-threatening bleeding ( $n = 46$ )	Non-life-threatening bleeding ( $n = 445$ )	<i>P</i>
Age, years (median $\pm$ SD)	46.10 $\pm$ 13.02	44.33 $\pm$ 12.94	46.29 $\pm$ 13.03	0.331
Sex (male/female) (%)	300 (61.1)/191 (38.9)	26 (56.5)/20 (43.5)	274 (61.6)/171 (38.4)	0.503
Donor				
Related allogeneic	353 (71.9)	26 (56.5)	327 (73.5)	0.015
Unrelated allogeneic	138 (28.1)	20 (43.5)	118 (26.5)	
Stage of disease				
Low risk	230 (46.8)	22 (47.8)	208 (46.7)	0.083
Intermediate risk	154 (31.4)	9 (19.5)	145 (32.6)	
Advanced risk	107 (21.8)	15 (32.6)	92 (20.7)	
Source of stem cells				
Peripheral blood	401 (81.7)	32 (69.6)	369 (82.9)	0.016
Bone marrow	71 (14.5)	9 (19.6)	62 (13.9)	
Umbilical cord	19 (3.9)	5 (10.9)	14 (3.1)	
Conditioning regimen				
RIC	279 (56.8)	22 (47.8)	257 (57.8)	0.196
Myeloablative	212 (43.2)	24 (52.2)	188 (42.2)	
GVHD prophylaxis				
CNI (TAC or CsA) + MTX	353 (71.9)	30 (65.2)	323 (72.6)	0.001
CNI (TAC or CsA) + MMF	33 (6.7)	9 (19.6)	24 (5.4)	
TAC/SIR	77 (15.7)	3 (6.5)	74 (16.6)	
Others	28 (5.7)	4 (8.7)	24 (5.4)	
Complications after HSCT				
Grade 0–II acute GVHD	425 (86.6)	30 (65.2)	395 (88.8)	
Grade III–IV acute GVHD	66 (13.4)	16 (34.8)	50 (11.2)	<0.001*
Extensive chronic GVHD	135 (27.5)	10 (21.7)	125 (28.1)	0.358†
Veno-occlusive disease	27 (5.5)	5 (10.9)	22 (4.9)	0.093‡
Thrombotic microangiopathy	41 (8.4)	12 (26.1)	29 (6.5)	<0.001§

RIC, reduced-intensity conditioning; GVHD, graft-versus-host disease; CNI, calcineurin inhibitors; TAC, tacrolimus; CsA, ciclosporin; MTX, methotrexate; MMF, mycophenolate mofetil; SIR, sirolimus; HSCT, haematopoietic stem cell transplantation; SD, standard deviation.

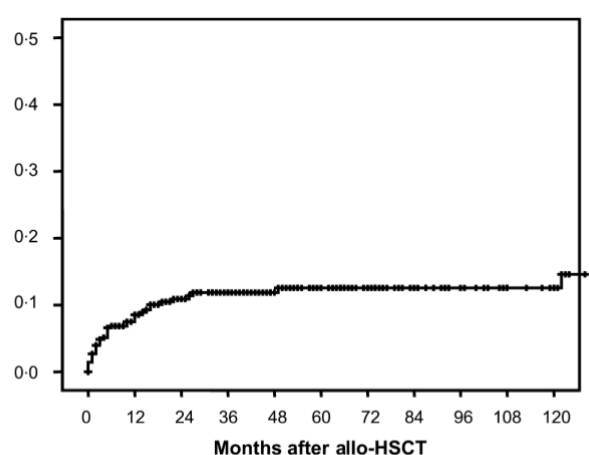
Stage of disease: low risk (first complete remission or chronic phase), high risk (relapse or progressive disease, blast crisis) and intermediate risk (all others).

\*Compared with grade 0–II acute GVHD.

†Compared with those without extensive chronic GVHD.

‡Compared with those without veno-occlusive disease.

§Compared with those without thrombotic microangiopathy.



**Fig 1.** Cumulative incidence of life-threatening bleeding. Allo-HSCT, allogeneic haematopoietic stem cell transplant.

associated with life-threatening bleeding complications in the univariate analysis. In multivariate analyses, only the presence of severe thrombocytopenia after day +28 [Hazard ratio (HR) = 3.20, 95% confidence interval (CI) = 1.53–6.68,  $P = 0.002$ ] and the development of grade III–IV acute GVHD (HR = 2.60, 95% CI = 1.26–5.35,  $P = 0.009$ ) and TMA (HR = 2.45, 95% CI = 1.12–5.33,  $P = 0.024$ ) retained their association with life-threatening bleeding events.

#### *Outcome of life-threatening bleeding development after allogeneic HSCT*

Bleeding was the cause of death in 29 out of 46 patients with life-threatening bleeding (63%).

Severity of bleeding had a significant influence on outcome (Fig 2). The overall survival at 3 years among patients

**Table II.** Bleeding episodes after haematopoietic stem cell transplantation.

Location	All episodes (%)	Life-threatening (%)	Non-life-threatening (major/minor) (%)
Mucosal	12 (9.5)	0	12 (15.0)
Genitourinary	30 (23.8)	0	30 (37.5)
Gastrointestinal	44 (34.9)	14 (30.4)	30 (37.5)
Pulmonary	16 (12.7)	16 (34.8)	0
Central nervous system	12 (9.5)	12 (26.1)	0
Gynaecological	3 (2.4)	0	3 (3.7)
Others	9 (7.1)	4 (8.7)	5 (6.3)
Total	126 (100)	46 (100)	80 (100)

without bleeding was 67.1%, but only 17.1% for patients with life-threatening bleeding ( $P < 0.001$ ).

Moreover, acute grade III–IV GVHD was associated with a worse outcome among patients with life-threatening bleeding (Fig 3A); median overall survival was 7 months for life-threatening bleeding patients without severe acute GVHD compared with 3 months for those with severe acute GVHD ( $P = 0.010$ ). Figure 3B illustrates the overall survival among patients without life-threatening bleeding with or without acute grade III–IV GVHD.

## Discussion

Bleeding is a frequent complication after allogeneic-HSCT and is associated with poor survival after in these cases. Consistent with other series, 25% of patients experienced at least one bleeding episode (Nevo *et al*, 1998, 1999; Pihusch *et al*,

2002; Bacigalupo, 2003). Although several reports found gastrointestinal and genitourinary locations to be the most common sites for bleeding after allogeneic-HSCT, death from bleeding is rarely reported (<10% of deaths after allo-HSCT) except when due to diffuse alveolar haemorrhage and intracranial haemorrhage. In our series, one-third of bleeding patients suffered life-threatening bleeding, which represents a cumulative incidence of 11% at 10 years in all allogeneic HSCT recipients, and 63% of them died from their bleeding.

Pulmonary and gastrointestinal bleeding were the most common sites for life-threatening bleeding in allogeneic HSCT recipients (corresponding to two-thirds of all life-threatening bleeding episodes), followed by central nervous system (26.1%). Given that adverse effects of bleeding on survival were correlated with bleeding intensity it is essential to study the life-threatening risk factors if the overall survival of these patients needs to be improved. However, little is known about bleeding complications, and most other studies have analysed bleeding episodes without considering their severity, or have focused on a single bleeding location. To our knowledge, this is the first study to attempt to determine risk factors for life-threatening bleeding complications after allogeneic-HSCT.

The risk factors for life-threatening bleeding in our series were prolonged severe thrombocytopenia, severe acute GVHD and TMA, but not other variables that have been found to be associated with bleeding episodes in other studies, such as a myeloablative conditioning regimen, use of antithymocyte globulin, umbilical cord transplantation, VOD and the administration of anticoagulant therapy (Labrador *et al*, 2013).

Prolonged severe thrombocytopenia has previously been associated with bleeding complications (Pihusch *et al*, 2002; Labrador *et al*, 2013), and has been reported as a risk factor for intracranial haemorrhage in several studies (Pomeranz

**Table III.** Univariate and multivariate analyses of factors influencing life-threatening bleeding episodes.

Variable	Univariate <i>P</i>	Multivariate <i>P</i>	Hazard ratio (95% CI)
Ag > 45 years	0.494	0.286	1.42 (0.74–2.71)
Male sex	0.694	0.743	1.11 (0.60–2.04)
Advanced disease	0.004	0.100	1.74 (0.90–3.37)
Unrelated donor	0.002	0.844	1.08 (0.50–2.33)
Ablative conditioning regimen	0.351	–	–
GVHD prophylaxis (CNI + MTX vs. others)	0.007	0.372	0.71 (0.33–1.51)
Use of ATG	<0.001	0.128	2.17 (0.80–5.89)
Umbilical cord transplantation*	0.002	0.749	1.23 (0.34–4.41)
Severe thrombocytopenia after day 28	<0.001	0.002	3.20 (1.53–6.68)
Anticoagulation after HSCT	0.372	–	–
Grade III–IV acute GVHD†	<0.001	0.009	2.60 (1.26–5.35)
Extensive chronic GVHD‡	0.073	–	–
Veno-occlusive disease	0.080	–	–
Thrombotic microangiopathy	<0.001	0.024	2.45 (1.12–5.33)

GVHD, graft-versus-host disease; CNI, calcineurin inhibitors; MTX, methotrexate; ATG, antithymocyte globulin.

\*Compared with bone marrow or peripheral blood stem cells.

†Compared with non-acute GVHD plus grade I–II acute GVHD.

‡Compared with limited or non-chronic GVHD.

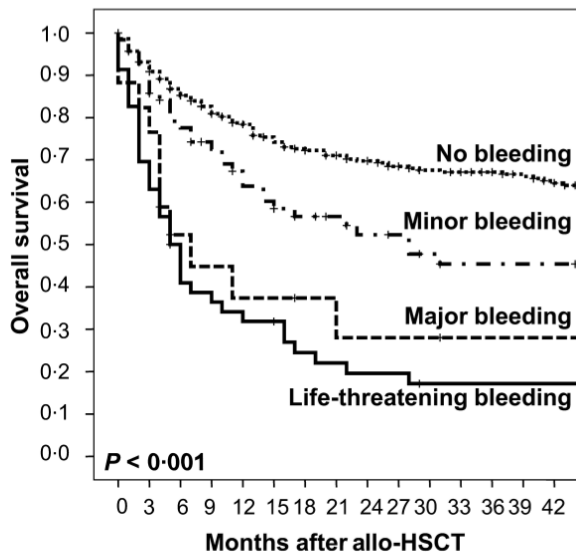


Fig 2. Overall survival according to severity of bleeding. Allo-HSCT, allogeneic haematopoietic stem cell transplant.

*et al*, 1994; Graus *et al*, 1996; Colosimo *et al*, 2000; Nevo & Vogelsang, 2001). Here, we have also identified thrombocytopenia as a main cause of bleeding from other sites, such as pulmonary haemorrhage and gastrointestinal or genitourinary bleeding. Previous studies have also shown that when prophylactic platelet transfusion was given, profound thrombocytopenia was not the only key risk factor in most bleeding events following HSCT (Nevo & Vogelsang, 2001; Nevo *et al*, 2007). Additionally, the thrombocytopenia becomes more severe and prolonged in patients who develop GVHD (Bacigalupo,

2003). Therefore, the role of other factors in pathophysiology of life-threatening bleeding must be emphasized.

Development of acute GVHD has also been associated with bleeding complications (Nevo *et al*, 1999; Pihusch *et al*, 2002; Bacigalupo, 2003; Gerber *et al*, 2008) and its severity is closely correlated with the severity of bleeding episodes (Nevo *et al*, 1999; Bacigalupo, 2003). Our results are in accordance with this, and we have clarified that acute grade III–IV GVHD, but not chronic GVHD, is associated with life-threatening bleeding. Previously, grade III–IV acute GVHD have been associated with intracranial haemorrhage (Najima *et al*, 2009), pulmonary haemorrhage and gastrointestinal bleeding (Nevo *et al*, 1999), which accounted for more than 90% of the life-threatening bleeding episodes in our series. Cumulative endothelial and epithelial damage through immunological injury to the vasculature could explain the risk of bleeding in GVHD (Dumler *et al*, 1989). Another possible mechanism is the reduction of factor XIII (FXIII) levels in patients with GVHD of the gut, whose FXIII levels are known to be below the normal range, and a correlation between FXIII activity and severity of GVHD.

Patients who developed TMA had a higher risk of life-threatening bleeding. It is of particular note that TMA development was also associated with severe acute GVHD in several studies (Shimoni *et al*, 2004; Nakamae *et al*, 2006; Batts & Lazarus, 2007; Worel *et al*, 2007; Changsirikulchai *et al*, 2009; Willems *et al*, 2010; Labrador *et al*, 2014). Therefore, given that aggressive treatment against underlying mechanisms of life-threatening bleeding may improve survival after allo-HSCT, the improvement of acute GVHD treatment would be crucial, because it leads to a poorer outcome in these patients.

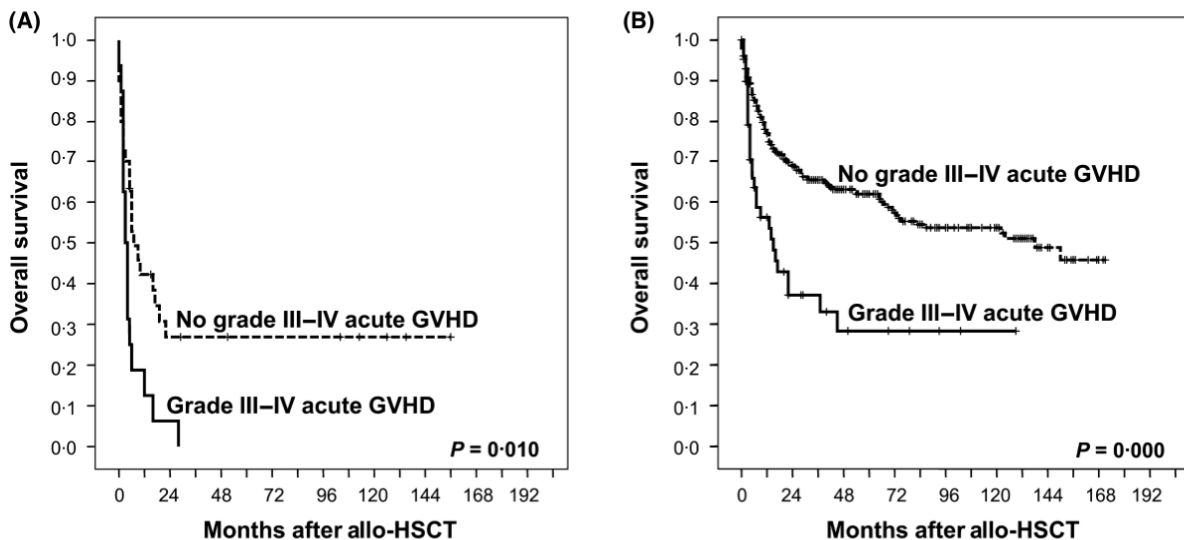


Fig 3. (A) Overall survival among patients with life-threatening bleeding with or without acute grade III–IV GVHD. (B) Overall survival among patients without life-threatening bleeding with or without acute grade III–IV GVHD. Allo-HSCT, allogeneic haematopoietic stem cell transplant; GVHD, graft-versus-host disease.

In conclusion, life-threatening bleeding is a common complication after allogeneic HSCT. Prolonged severe thrombocytopenia, acute grade III–IV GVHD and TMA were identified as the main risk factors for its development. However, a large multicentre register could be needed to identify and validate the individual risk for life-threatening bleeding.

### Acknowledgements

The authors would like to thank Manuela Salinero, Marta García-Blázquez and Manuel Delgado for their technical assistance, and Phil Mason for the English language revision of the manuscript.

### References

Bacigalupo, A. (2003) Haemopoietic stem cell transplants: the impact of haemorrhagic complications. *Blood Reviews*, **17**, S6–S10.

Batts, E.D. & Lazarus, H.M. (2007) Diagnosis and treatment of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: real progress or are we still waiting? *Bone Marrow Transplantation*, **40**, 709–719.

Changsirikulchai, S., Myerson, D., Guthrie, K.A., McDonald, G.B., Alpers, C.E. & Hingorani, S.R. (2009) Renal thrombotic microangiopathy after hematopoietic cell transplant: role of GVHD in pathogenesis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, **4**, 345–353.

Colosimo, M., McCarthy, N., Jayasinghe, R., Morton, J., Taylor, K. & Durrant, S. (2000) Diagnosis and management of subdural haematoma complicating bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, **25**, 549–552.

Dumler, J.S., Beschornner, W.E., Farmer, E.R., Di Gennaro, K.A., Saral, R. & Santos, G.W. (1989) Endothelial-cell injury in cutaneous acute graft-versus-host disease. *American Journal of Pathology*, **135**, 1097–1103.

Filipovich, A.H., Weisdorf, D., Pavletic, S., Socie, G., Wingard, J.R., Lee, S.J., Martin, P., Chien, J., Przepiorka, D., Couriel, D., Cowen, E.W., Dinndorf, P., Farrell, A., Hartzman, R., Henslee-Downey, J., Jacobsohn, D., McDonald, G., Mittleman, B., Rizzo, J.D., Robinson, M., Schubert, M., Schultz, K., Shulman, H., Turner, M., Vogelsang, G. & Flowers, M.E. (2005) 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. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **11**, 945–956.

Gerber, D.E., Segal, J.B., Levy, M.Y., Kane, J., Jones, R.J. & Streiff, M.B. (2008) The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood*, **112**, 504–510.

Graus, F., Saiz, A., Sierra, J., Arbaiza, D., Rovira, M., Carreras, E., Tolosa, E. & Rozman, C.

### Authorship

JRG-P and JL conceived the study; MS-B and JL performed the statistical analysis; JL and JRG-P wrote the paper; JL collected the data and critically reviewed the paper; DC, LL-C, LV, FS-G, CG, IA, MCC and JRG-P provided the patients and critically reviewed the paper; all authors approved the final version of the paper.

### Competing interests

All authors declare no competing financial interests in relation to the work described.

(1996) Neurologic complications of autologous and allogeneic bone marrow transplantation in patients with leukemia: a comparative study. *Neurology*, **46**, 1004–1009.

Holler, E., Kolb, H.J., Greinix, H., Perrotin, D., Campilho, F., Aversa, F., Gil, L., Cornelissen, J., Varanese, L., Schacht, A., Friese, A. & Rustige, J. (2009) Bleeding events and mortality in SCT patients: a retrospective study of hematopoietic SCT patients with organ dysfunctions due to severe sepsis or GVHD. *Bone Marrow Transplantation*, **43**, 491–497.

Jones, R.J., Lee, K.S., Beschornner, W.E., Vogel, V.G., Grochow, L.B., Braine, H.G., Vogelsang, G.B., Sensenbrenner, L.L., Santos, G.W. & Saral, R. (1987) Venooclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation*, **44**, 778–783.

Labrador, J., Lopez-Anglada, L., Perez-Lopez, E., Lozano, F.S., Lopez-Corral, L., Sanchez-Guijo, F.M., Vazquez, L., Perez Rivera, J.A., Martin-Herrero, F., Sanchez-Barba, M., Guerrero, C., del Canizo, M.C., Caballero, M.D., San Miguel, J.F., Alberca, I. & Gonzalez-Porras, J.R. (2013) Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Haematologica*, **98**, 437–443.

Labrador, J., Lopez-Corral, L., Lopez-Godino, O., Vazquez, L., Cabrero-Calvo, M., Perez-Lopez, R., Diez-Campelo, M., Sanchez-Guijo, F., Perez-Lopez, E., Guerrero, C., Alberca, I., Del Canizo, M.C., Perez-Simon, J.A., Gonzalez-Porras, J.R. & Caballero, D. (2014) Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving GVHD prophylaxis with tacrolimus plus MTX or sirolimus. *Bone Marrow Transplantation*, **49**, 684–690.

Najima, Y., Ohashi, K., Miyazawa, M., Nakano, M., Kobayashi, T., Yamashita, T., Akiyama, H. & Sakamaki, H. (2009) Intracranial hemorrhage following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *American Journal of Hematology*, **84**, 298–301.

Nakamae, H., Yamane, T., Hasegawa, T., Nakamae, M., Terada, Y., Hagihara, K., Ohta, K. & Hino, M. (2006) Risk factor analysis for thrombotic microangiopathy after reduced-intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *American Journal of Hematology*, **81**, 525–531.

Nevo, S. & Vogelsang, G.B. (2001) Acute bleeding complications in patients after bone marrow transplantation. *Current Opinion in Hematology*, **8**, 319–325.

Nevo, S., Swan, V., Enger, C., Wojno, K.J., Bitton, R., Shabooti, M., Fuller, A.K., Jones, R.J., Braine, H.G. & Vogelsang, G.B. (1998) Acute bleeding after bone marrow transplantation (BMT) – incidence and effect on survival. A quantitative analysis in 1,402 patients. *Blood*, **91**, 1469–1477.

Nevo, S., Enger, C., Swan, V., Wojno, K.J., Fuller, A.K., Altomonte, V., Braine, H.G., Noga, S.J. & Vogelsang, G.B. (1999) Acute bleeding after allogeneic bone marrow transplantation: association with graft versus host disease and effect on survival. *Transplantation*, **67**, 681–689.

Nevo, S., Fuller, A.K., Hartley, E., Borinsky, M.E. & Vogelsang, G.B. (2007) Acute bleeding complications in patients after hematopoietic stem cell transplantation with prophylactic platelet transfusion triggers of  $10 \times 10^9$  and  $20 \times 10^9$  per L. *Transfusion*, **47**, 801–812.

Pihusch, M. (2004) Bleeding complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Seminars in Hematology*, **41**, 93–100.

Pihusch, R., Salat, C., Schmidt, E., Gohring, P., Pihusch, M., Hiller, E., Holler, E. & Kolb, H.J. (2002) Hemostatic complications in bone marrow transplantation: a retrospective analysis of 447 patients. *Transplantation*, **74**, 1303–1309.

Pomeranz, S., Naparstek, E., Ashkenazi, E., Nagler, A., Lossos, A., Slavin, S. & Or, R. (1994) Intracranial haematomas following bone marrow transplantation. *Journal of Neurology*, **241**, 252–256.

Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H.G., Beatty, P., Hows, J. & Thomas, E.D. (1995) 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplantation*, **15**, 825–828.

Shimoni, A., Yeshurun, M., Hardan, I., Avigdor, A., Ben-Bassat, I. & Nagler, A. (2004) Thrombotic microangiopathy after allogeneic stem cell transplantation in the era of reduced-intensity

- conditioning: the incidence is not reduced. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **10**, 484–493.
- Shulman, H.M., Sullivan, K.M., Weiden, P.L., McDonald, G.B., Striker, G.E., Sale, G.E., Hackman, R., Tsoi, M.S., Storb, R. & Thomas, E.D. (1980) Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *American Journal of Medicine*, **69**, 204–217.
- Willems, E., Baron, F., Seidel, L., Frere, P., Fillet, G. & Beguin, Y. (2010) Comparison of thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic cell transplantation with high-dose or nonmyeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplantation*, **45**, 689–693.
- Worel, N., Greinix, H.T., Leitner, G., Mitterbauer, M., Rabitsch, W., Rosenmayr, A., Hocker, P. & Kalhs, P. (2007) ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following reduced-intensity conditioning: close association with transplant-associated microangiopathy. *Transfusion and Apheresis Science*, **36**, 297–304.



---

## **ARTÍCULO 3: Manejo antitrombótico y evolución de los eventos tromboembólicos venosos no relacionados con el catéter tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.**

INTRODUCCIÓN: Los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) presentan un riesgo elevado de sufrir complicaciones trombóticas. Sin embargo, la experiencia que existe sobre el tratamiento antitrombótico en pacientes con eventos tromboembólicos venosos (ETEV) tras el Alo-TPH es muy limitada. En principio, el tratamiento con anticoagulantes a dosis plenas y durante al menos 3 meses tras un ETEV en receptores de un Alo-TPH es muy complicado de realizar debido a la trombocitopenia y al daño tisular causado por los regímenes de acondicionamiento o las complicaciones post-trasplante tales como la enfermedad injerto contra huésped.

OBJETIVOS, MATERIAL Y MÉTODOS: Describir una cohorte de pacientes con eventos tromboembólicos venosos no relacionados con el catéter tras el Alo-TPH, incluyendo su manejo antitrombótico y su evolución.

RESULTADOS: Se identificaron 23 eventos tromboembólicos venosos (ETEV) no relacionados con el catéter (18 pacientes tuvieron una trombosis venosa profunda de extremidad inferior y 5 pacientes un tromboembolismo pulmonar). La mediana de tiempo desde el día de la infusión de las células progenitoras hematopoyéticas hasta el diagnóstico del ETEV fue de 150 días. Once pacientes fueron tratados con dosis completa de heparina de bajo peso molecular (HBPM). Diez pacientes con hemorragia o trombocitopenia se manejaron con dosis profilácticas de HBPM. La mediana de duración del tratamiento antitrombótico fue de 93 días (rango, 25 – 341). En dos pacientes, con trombosis venosa profunda y sangrado digestivo activo, se colocó un filtro de vena cava inferior. Las tasas de recurrencia o extensión del trombo y de hemorragia clínicamente significativa fueron del 17% y el 30%, respectivamente. Un episodio de sangrado fue considerado menor; dos fueron mayores y cuatro episodios fueron amenazantes para la vida. Las hemorragias con compromiso vital ocurrieron tanto en pacientes con HBPM a dosis completa (n=2) como a dosis profiláctica (n=2). Dos muertes se atribuyeron directamente al sangrado. Por otro lado, en el momento de la recurrencia, 3 de los 4 pacientes recibieron HBPM a dosis profilácticas y

sólo una dosis completa, pero los 4 pacientes presentaban enfermedad injerto contra huésped crónica extensa.

CONCLUSIONES: Cerca de la mitad de los receptores de un Alo-TPH que tienen un ETEV no pueden recibir una dosis completa de HBPM. Además, las tasas de recurrencia o extensión del trombo y de sangrado clínicamente significativo fueron significativamente elevadas.



## Journal of Thrombosis and Thrombolysis

### Management patterns and outcomes in symptomatic non-catheter related venous thromboembolism following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Management patterns and outcomes in symptomatic non-catheter related venous thromboembolism following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation
<b>Article Type:</b>	Original Article/Investigation
<b>Keywords:</b>	venous thromboembolism; deep venous thrombosis; pulmonary embolism; allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; treatment; outcome.
<b>Corresponding Author:</b>	Jorge Labrador SPAIN
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Jorge Labrador
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Jorge Labrador Joaquín Rivero-Gonzalez Lucía López-Corral Raquel Monroy Francisco S Lozano María Dolores Caballero José Maria Bastida José Ramón González-Porras
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	

[Click here to view linked References](#)VTE after allogeneic HSCT

---

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65**TITLE PAGE****Title**

Management patterns and outcomes in symptomatic non-catheter related venous thromboembolism following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

**Running short title**

VTE after allogeneic HSCT

**Authors**

Jorge Labrador<sup>1</sup>, Joaquin Gonzalez Rivero<sup>2</sup>, Lucia Lopez-Corral<sup>2</sup>, Raquel Monroy<sup>2</sup>, Francisco S. Lozano<sup>3</sup>, Maria Dolores Caballero<sup>2</sup>, José María Bastida<sup>2</sup> and Jose Ramon Gonzalez-Porras<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Hematology, Hospital Universitario de Burgos, Burgos, Spain; <sup>2</sup> Department of Hematology, IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain; <sup>3</sup> Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain.

**Correspondence**

Jose Ramon Gonzalez Porras  
Department of Hematology  
IBSAL - Hospital Universitario de Salamanca  
Paseo de San Vicente s/n  
37007 Salamanca (Spain)  
E-mail: jrqp@usal.es

DISCLAIMERS: None

**MAIN TEXT WORD COUNT:** 1 082 (without references)

**ABSTRACT WORD COUNT:** 136

**FIGURES:** 0

**TABLES:** 1

**REFERENCE COUNT:** 5

**SCIENTIFIC CATEGORY:** Original article (Short Report)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Authorship Details:**

J. R. Gonzalez-Porras and J. Labrador conceived the study; J. Labrador and J. Gonzalez-Rivero collected the data; J. Gonzalez-Rivero and J. R Gonzalez-Porras analysed the data; J. Labrador and J. R. González-Porras wrote the paper; F. S. Lozano, L. Lopez-Corral, M. D. Caballero and J. R. González-Porras provided the patients; all authors critically reviewed the paper and approved its final version.

## DESIGN AND METHODS

### Subjects

Analyses were performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the guidelines of the institutional review board of the Hospital Universitario de Salamanca. We conducted a retrospective cohort study of 23 consecutive patients (aged over 18 years) who had undergone allogeneic HSCT and had an episode of symptomatic non-catheter VTE. No patients received prophylaxis or therapeutic anticoagulation at the time of HSCT admission. VTE was classified as deep venous thrombosis (DVT) or pulmonary embolism (PE). The diagnosis of DVT was considered valid by compression ultrasonography or venography, according to standard methods. Pulmonary embolism was only accepted if it was demonstrated by perfusion lung scan or computerized tomography. In cases where DVT and PE occurred together, the events were classified as PE. Informed consent was obtained from all patients before HSCT. The main demographic and haematological features of the evaluable allogeneic HSCT recipients (median age, 55 years; 48% male) are shown in Table 1. The day of stem cell infusion was designated as day 0. Post-HSCT complications, such as GVHD was recorded. Any bleeding event after allogeneic HSCT was also included in the analysis, with the exception of mild petechiae. The number and location of bleeding sites were recorded. Bleeding was considered a major event if it conditioned a reduction in the haemoglobin level of at least 20 g/l, transfusion of at least two blood-pack units, or symptomatic bleeding in a critical area or organ. Major bleeding was considered to be life-threatening if it resulted in: fatality, symptomatic intracranial or pulmonary bleeding, bleeding with a decrease in the haemoglobin level of at least 50 g/l, or bleeding requiring transfusion of at least four red blood-cell units or inotropic agents, or if surgery was required. All other bleeding was considered to be minor.

### Statistical analysis

Data were initially included in an Excel (Microsoft) spreadsheet and a descriptive statistical analysis performed. Results are expressed as percentages for categorical variables and as medians (and range) for continuous variables.

## RESULTS

Twenty-three cases of symptomatic VTE following HSCT were identified. Eighteen patients had lower extremity DVT after allogeneic HSCT, whereas 5 patients had PE. The median time from HSC administration to diagnosis of venous VTE was 150 days (range, 17 – 3285 days). At the time of VTE diagnosis, the mean platelet

count was  $128 \times 10^9/L$  (range 31–315). 21 out of 23 patients were treated with antithrombotic therapy. The median time of antithrombotic therapy was 93 days (range, 25 - 341). Eleven patients were treated with full-dose anticoagulation using low molecular weight heparin (LMWH) (enoxaparin 1 mg/kg/every 12 hours or bemparin 115 UI/kg/daily), but in one case, low molecular weight heparin therapy was switched to treatment with acenocumarol (INR target, 2-3). Ten patients with minor bleeding and/or relevant thrombocytopenia were managed using prophylactic-dose LMWH (enoxaparin 40 mg/ once daily or bemparin 3500 UI/once daily) on a best clinical judgment basis. In two patients with DVT and active intestinal haemorrhage, anticoagulation treatment was not initiated and an inferior vena cava (IVC) filter was inserted. Both cases died from intestinal transplant associated microangiopathy and leukaemia progression after 3 and 6 months of IVC placed, respectively. Rate of clinically relevant haemorrhage observed in our patients was 30% (7 patients). The median time until the first bleeding episode was 60 days (range, 2 - 3660 days). Two of the bleeding events were considered minor bleeding, 1 was major and 4 bleeding episodes were life-threatening events. The life-threatening bleedings affected either the GI tract (n = 2) lung (n = 1) or the central nervous system (n = 1). The life-threatening bleedings occurred in both full-dose LMWH (n = 2) and low-dose LMWH (n=2). All four patients discontinued LMWH permanently. Two deaths were directly attributable to bleeding. Rate of clot recurrence or extension was 17% (4 patients). At the time of clot recurrence or extension, three of four patients received low-dose LMWH and one patient full-dose LMWH. All four patients with recurrence VTE had extensive chronic GVHD.

## DISCUSSION

This study illustrates a significant problem in patients with allogeneic HSCT; How to manage the anticoagulation in patients with venous thromboembolism following allogeneic HSCT? In this series, we have observed that antithrombotic management of symptomatic non-catheter related VTE following allogeneic HSCT is a complex task. Nearly half of the HSCT recipients who have a VTE may not be receive full-dose LMWH. Also, rates of clot recurrence or extension (17%) and clinically relevant haemorrhage (30%) observed in our patients were highly significant. Among patients with active cancer and acute symptomatic VTE, the use of full-dose tinzaparin was a safety and effective strategy on preventing recurrent VTE [5]. However, in allogeneic HSCT is difficult to maintain a full-dose LMWH. Prolonged severe thrombocytopenia and tissue damage, caused by conditioning regimen or post-transplant complications such as acute GVHD or thrombotic microangiopathy, are the best reasons of bleeding following allogeneic HSCT [3,4]. Even as low-dose LMWH

we have reported two cases of life-threatening bleeding complication. However, well-designed clinical trials to evaluate the risks and benefits of VTE anticoagulation treatment in this population are needed.

**REFERENCES**

1. Gerber DE, Segal JB, Levy MY, Kane J, Jones RJ, Streiff MB (2008) The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood* 112 (3):504-510. doi:10.1182/blood-2007-10-117051
2. Gonsalves A, Carrier M, Wells PS, McDiarmid SA, Huebsch LB, Allan DS (2008) Incidence of symptomatic venous thromboembolism following hematopoietic stem cell transplantation. *J Thromb Haemost* 6 (9):1468-1473. doi:10.1111/j.1538-7836.2008.03077.x
3. Labrador J, Lopez-Anglada L, Perez-Lopez E, Lozano FS, Lopez-Corral L, Sanchez-Guijo FM, Vazquez L, Perez Rivera JA, Martin-Herrero F, Sanchez-Barba M, Guerrero C, del Canizo MC, Caballero MD, San Miguel JF, Alberca I, Gonzalez-Porras JR (2013) Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Haematologica* 98 (3):437-443. doi:10.3324/haematol.2012.069559
4. Labrador J, Lopez-Corral L, Vazquez L, Sanchez-Guijo F, Guerrero C, Sanchez-Barba M, Lozano FS, Alberca I, Del Canizo MC, Caballero D, Gonzalez-Porras JR (2015) Incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic stem cell transplant. *Br J Haematol* 169 (5):719-725. doi:10.1111/bjh.13344
5. Lee AY, Kamphuisen PW, Meyer G, Bauersachs R, Janas MS, Jarner MF, Khorana AA (2015) Tinzaparin vs Warfarin for Treatment of Acute Venous Thromboembolism in Patients With Active Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 314 (7):677-686. doi:10.1001/jama.2015.9243

## Legend to tables

Table 1.-

Header. Baseline characteristics of patients

Foot. PB: Peripheral blood; BM: Bone marrow; RIC: reduced-intensity conditioning; GVHD: graft versus host disease; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation.

Table 1: Baseline characteristics of patients	
Variable	Total
Age, median (range)	55 (27-67)
Sex (male / female) (%)	48 / 52
Diagnosis, n	
Acute myeloid leukemia	6
Myelodysplastic syndrome	3
Non-Hodgkin lymphoma	3
Acute lymphocytic leukemia	3
Multiple Myeloma	3
Others	5
Donor	
Related / Unrelated, %	56 / 44
Source of stem cell	
PB / BM, %	95 / 5
Conditioning regimen	
Myeloablative / RIC, %	56 / 44
Prophylaxis of GVHD, n	
Cyclosporine plus methotrexate	15
Tacrolimus plus sirolimus	2
Cyclosporine plus mycophenolate mofetil	2
Others	4
Chronic GVHD, n	
Limited chronic GVHD	2
Extensive chronic GVHD	7





---

## **ARTÍCULO 4: Factores de riesgo de microangiopatía trombótica asociada a trasplante en receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos que recibieron profilaxis para enfermedad injerto contra huésped con tacrolimus más metotrexato o más sirolimus.**

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS: La microangiopatía trombótica asociada al trasplante (MAT-AT) es una temida complicación del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH) debido a su alta tasa de mortalidad. El uso de inhibidores de la calcineurina o de sirolimus para la profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (EICH) se ha sugerido como un factor de riesgo potencial. Sin embargo, el impacto de la combinación de tacrolimus y sirolimus en el aumento del riesgo de la MAT-AT actualmente no está bien definido. Basándonos en estos datos, nuestro objetivo principal fue determinar la incidencia de MAT-AT con la combinación de tacrolimus más sirolimus vs. otros regímenes basados en tacrolimus como profilaxis de EICH. Además, como objetivos secundarios, nos propusimos identificar los factores de riesgo y determinar el impacto pronóstico de desarrollar MAT-AT tras el Alo-TPH.

MATERIAL Y MÉTODOS: Para ello, hemos analizado retrospectivamente la incidencia de MAT-AT en 102 receptores de un Alo-TPH (a partir de los 18 años de edad) que recibieron de manera consecutiva tacrolimus más sirolimus (TAC/SIR) (n = 68) o más metotrexato (TAC/MTX) con o sin ATG (n = 34) como profilaxis de la EICH.

El diagnóstico de MAT-AT se realizó de acuerdo a los criterios de MAT-AT probable definidos por el estudio de Cho y cols.: al menos 2 esquistocitos por campo en el frotis de sangre periférica, incremento de LDH sérica, trombocitopenia por debajo de  $50 \times 10^9/L$ , reducción del nivel de hemoglobina, test de Coombs negativo, nivel de haptoglobina reducido y ausencia de coagulopatía.

RESULTADOS: Ocho de los 102 Alo-TPH desarrollaron MAT-AT (7,8%). No se observaron diferencias significativas en la incidencia de MAT-AT entre los pacientes que recibieron TAC/SIR comparado con los que recibieron TAC/MTX  $\pm$  ATG (7,4% vs. 8,8%, P=0,8). La mediana del tiempo desde el día de la infusión de los progenitores hematopoyéticos hasta el diagnóstico de MAT-AT fue de 81 días (rango, 39 – 405 días). Seis

de los ocho pacientes con MAT-AT fueron diagnosticados antes del día +110 post-trasplante.

Desarrollar EICH agudo grado III-IV, haber recibido un trasplante previo (autólogo o alogénico) y niveles séricos de tacrolimus superiores a 25 ng/ml se asociaron significativamente con mayor riesgo de MAT-AT. También observamos que los pacientes sin ninguno de estos factores de riesgo, o con un sólo factor pero sin EICH agudo grado III-IV, tuvieron un riesgo bajo de MAT-AT (n=1/86, 1,2%). Los pacientes que desarrollaron EICH agudo grado III-IV o que tuvieron un TPH previo y niveles de tacrolimus superiores 25 ng/ml, tuvieron un riesgo intermedio de MAT-AT (n=3/11, 27,3%). Aquellos pacientes que desarrollaron EICH agudo grado III-IV y habían recibido un TPH previo y/o tuvieron niveles séricos de tacrolimus superiores a 25 ng/ml tuvieron un riesgo muy alto de MAT-AT (n=4/5, 80%).

Los pacientes que desarrollaron MAT-AT tuvieron una supervivencia significativamente menor (P<0,001); sin embargo, cuando se incluyó la MAT-AT en el modelo multivariante, dejó de ser un factor pronóstico independiente, probablemente porque el desarrollo de EICH agudo grado III-IV fue el factor más determinante de MAT-AT en nuestra serie.

CONCLUSIONES: La combinación de TAC/SIR no incrementa el riesgo de MAT-AT en comparación con TAC/MTX ± ATG. Por el contrario, identificamos 3 grupos diferentes de riesgo para el desarrollo de MAT-AT en estos pacientes. Desarrollar EICH aguda grave es el factor de riesgo más importante tanto para el desarrollo de MAT-AT como de la mortalidad relacionada con el trasplante; por lo tanto debe hacerse un esfuerzo para mejorar el tratamiento y la profilaxis de la EICH. Esto debe ser contrapesado mediante la estrecha monitorización de los niveles séricos de los inmunosupresores para que la toxicidad farmacológica pueda ser minimizada.

## ORIGINAL ARTICLE

## Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving GVHD prophylaxis with tacrolimus plus MTX or sirolimus

J Labrador<sup>1,2</sup>, L López-Corral<sup>1</sup>, O López-Godino<sup>1</sup>, L Vázquez<sup>1</sup>, M Cabrero-Calvo<sup>1</sup>, R Pérez-López<sup>3</sup>, M Díez-Campelo<sup>1</sup>, F Sánchez-Guijo<sup>1</sup>, E Pérez-López<sup>1</sup>, C Guerrero<sup>2</sup>, I Alberca<sup>1</sup>, MC del Cañizo<sup>1,2</sup>, JA Pérez-Simón<sup>4</sup>, JR González-Porras<sup>1</sup> and D Caballero<sup>1</sup>

Transplantation-associated thrombotic microangiopathy (TA-TMA) is a feared complication of allogeneic hematopoietic SCT (HSCT) owing to its high mortality rate. The use of calcineurin inhibitors or sirolimus (SIR) for GVHD prophylaxis has been suggested as a potential risk factor. However, the impact of tacrolimus (TAC) and SIR combinations on the increased risk of TA-TMA is currently not well defined. We retrospectively analyzed the incidence of TA-TMA in 102 allogeneic HSCT recipients who consecutively received TAC plus SIR (TAC/SIR) ( $n = 68$ ) or plus MTX (TAC/MTX)  $\pm$  ATG ( $n = 34$ ) for GVHD prophylaxis. No significant differences were observed in the incidence of TA-TMA between patients receiving TAC/SIR vs TAC/MTX  $\pm$  ATG (7.4% vs 8.8%,  $P = 0.8$ ). Only grade III–IV acute GVHD, previous HSCT and serum levels of TAC  $> 25$  ng/mL were associated with a greater risk of TA-TMA. Patients developing TA-TMA have significantly poorer survival ( $P < 0.001$ ); however, TA-TMA ceased to be an independent prognostic factor when it was included in a multivariate model. In conclusion, the combination of TAC/SIR does not appear to pose a higher risk of TA-TMA. By contrast, we identified three different risk groups for developing TA-TMA.

*Bone Marrow Transplantation* (2014) 49, 684–690; doi:10.1038/bmt.2014.17; published online 24 February 2014

**Keywords:** transplant-associated thrombotic microangiopathy; allo-SCT; tacrolimus; sirolimus; risk factors

## INTRODUCTION

Transplantation-associated thrombotic microangiopathy (TA-TMA) is a well-documented complication after allogeneic hematopoietic SCT (HSCT).<sup>1</sup> The reported incidence of TA-TMA varies greatly from 0.5–63.6%, which is at least partly a consequence of the marked discrepancy in the definitions used and the lack of uniform criteria for diagnosis.<sup>2</sup> A generalized endothelial dysfunction, independent of ADAMTS-13 activity, appears to be the key event that represents the final common pathway of the disease, resulting in thrombosis and fibrin deposition in the microcirculation.<sup>3–6</sup> However, the exact pathophysiology of TA-TMA remains unclear. A variety of potential risk factors has been proposed, such as different conditioning regimens,<sup>7–11</sup> the development of acute GVHD,<sup>1,3,8,10–14</sup> viral or fungal infections,<sup>1,2</sup> the use of unrelated donors,<sup>11</sup> HLA mismatch,<sup>1</sup> ABO incompatibility<sup>10</sup> and the use of calcineurin inhibitors (CYA and tacrolimus (TAC))<sup>15</sup> or sirolimus (SIR) for GVHD prophylaxis.<sup>16</sup> The combination of TAC and SIR (TAC/SIR) in both solid organ transplantation and HSCT is associated with an increased risk of TA-TMA in some studies.<sup>17–22</sup> Moreover, few comparisons of TAC/SIR with other TAC-based regimens have been reported. In fact, two recent studies suggest that TA-TMA incidence does not differ significantly between patients who received TAC/SIR and those who received TAC/MTX for GVHD prophylaxis.<sup>23,24</sup> However, these two studies were not focused on TA-TMA and only described the incidence of TA-TMA without analyzing risk factors for TA-TMA, management or clinical outcome.

In the current study we report the results of a retrospective analysis of 102 allogeneic HSCT recipients to determine the incidence of TA-TMA with a combination of TAC plus SIR vs other TAC-based regimens. In addition, we aimed to identify risk factors and the clinical outcome of TA-TMA after allogeneic HSCT.

## PATIENTS AND METHODS

## Patients

In 2007 TAC was introduced into our practice as GVHD prophylaxis for unrelated allogeneic HSCT. TAC was associated with MTX (TAC/MTX) in myeloablative allo-HSCT. By contrast, in the reduced-intensity conditioning regimen setting, TAC/MTX was also used until October 2008; subsequently, SIR plus TAC was used in the context of a phase II prospective multicenter trial (2007-006416-32 trial by GEL-TAMO/GETH) until October 2010, and as a standard procedure for patients receiving reduced-intensity conditioning allo-HSCT thereafter.<sup>25</sup>

In the current study, we analyzed retrospectively all consecutive allogeneic HSCT recipients (aged over 18 years) who received a TAC-based regimen for GVHD prophylaxis between April 2007 and July 2012 in our unit ( $n = 102$ ). Thirty-four received TAC/MTX and 68 TAC/SIR combinations. Demographic data, clinical course, occurrence of GVHD and immunosuppressive levels were recorded. Twenty-eight out of 68 patients in the TAC/SIR group have been included in a phase II trial, and the results have already been published.<sup>25</sup>

## Supportive care

The day of stem cell infusion was designated as day 0. Antibacterial, antiviral and antifungal prophylaxis was performed according to our

<sup>1</sup>Department of Hematology, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain; <sup>2</sup>Centro de Investigación del Cáncer, IBMC/CSIC-USAL, Salamanca, Spain; <sup>3</sup>Pharmacy Department, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain and <sup>4</sup>Department of Hematology, Hospital Universitario/Instituto de Biomedicina (IBIS)/CSIC, Seville, Spain. Correspondence: Dr J Labrador, Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Paseo de San Vicente, 58-182, Salamanca 37007, Spain.  
E-mail: jorge\_labrador@hotmail.com

Received 13 May 2013; revised 16 December 2013; accepted 20 December 2013; published online 24 February 2014

institutional guidelines with no differences between the two groups except for the use of azoles, which were not allowed for patients receiving TAC/SIR per protocol (with the exception of fluconazole). Ursodeoxycholic acid (600–900 mg once daily p.o.) was used to prevent veno-occlusive disease from the beginning of conditioning.

#### Acute GVHD prophylaxis

GVHD prophylaxis consisted of TAC/SIR ( $n = 68$ ), TAC/MTX ( $n = 16$ ) and TAC/MTX with antithymocyte globulin (TAC/MTX + ATG) ( $n = 18$ ), the latter being used for those patients receiving mismatched unrelated donor transplants and myeloablative conditionings. For patients receiving TAC/MTX + ATG, TAC was administered daily at a dose of 0.01 mg/kg i.v., starting on day  $-7$ , followed by 0.03 mg/kg i.v. Doses were adjusted as necessary to maintain serum levels between 5–15 ng/mL. Among patients receiving TAC/SIR, TAC was started on day  $-3$  at a dose of 0.02 mg/kg/day as a continuous i.v. infusion and doses were adjusted for target blood levels of 5–10 ng/mL. TAC was switched to an equivalent oral dose when oral intake was sufficient to maintain the target serum levels. SIR was administered at a dose of 6 mg p.o. on day  $-6$  (loading dose), followed by 4 mg once daily p.o. Doses were adjusted to maintain serum levels between 6 and 10 ng/mL. Both drug levels were assessed using immunoassays.

#### Post-HSCT complications

Post-HSCT complications, such as acute GVHD, TA-TMA, veno-occlusive disease, fungal or viral infection and relapse or progression after HSCT, were recorded. Acute GVHD were assessed and graded according to established criteria.<sup>26</sup>

Screening of TA-TMA: regular blood cell count and assay of lactate dehydrogenase were performed in all patients. Peripheral blood smear,

Coombs test and assay of haptoglobin were performed in those with reduced Hb level and/or thrombocytopenia  $< 50 \times 10^9/L$  or a decrease in platelet count of  $\geq 50\%$ .

The diagnosis of TA-TMA was made according to the probable TMA criteria:<sup>1</sup>  $\geq 2$  schistocytes per high-power field in peripheral blood, concurrent increased serum lactate dehydrogenase above the institutional baseline, thrombocytopenia  $< 50 \times 10^9/L$  or a decrease in platelet count of  $\geq 50\%$ , reduced Hb level, negative Coombs test results, reduced haptoglobin level and an absence of coagulopathy.

#### Statistical analysis

Differences between groups were evaluated by Student's *t*-test, for quantitative variables, and the  $\chi^2$ -test, for categorical variables, using IBM SPSS Statistics 20 (SPSS, Chicago, IL, USA). The incidence of TA-TMA and the overall survival were calculated using the Kaplan–Meier method. The two-sided log-rank test was used to identify risk factors for developing TA-TMA and to compare survival curves. All the parameters that were significant in univariate analyses were included in a multivariate analysis using Cox proportional hazard models. Statistical significance of all tests was accepted for values of  $P < 0.05$ .

## RESULTS

### Baseline characteristics of patients

We analyzed retrospectively 102 consecutive allogeneic HSCT recipients who received a TAC-based regimen for GVHD prophylaxis. Thirty-four received TAC/MTX and 68 TAC/SIR combinations. Clinical and laboratory characteristics are presented in Table 1. The mean age of recipients was significantly higher in

**Table 1.** Baseline characteristics of patients

Variable	Total ( $n = 102$ )	TAC/SIR ( $n = 68$ )	TAC/MTX ( $n = 34$ )	P-value
Age (median, range)	51 (20–68)	53 (30–68)	43.5 (20–60)	$< 0.001$
Sex (male/female)	61/41 (59.8/40.2)	40/28 (58.8/41.2)	21/13 (61.8/38.2)	NS
Stage of the disease <sup>a</sup>				NS
Low risk	40 (39.2)	24 (35.3)	16 (47.1)	
Intermediate risk	24 (23.5)	15 (22.1)	9 (26.5)	
Advanced risk	37 (36.3)	29 (42.6)	8 (23.5)	
Prior allogeneic HSCT	6 (5.9)	5 (7.4)	1 (2.9)	NS
Donor				NS
Related allogeneic	34 (33.3)	23 (33.8)	11 (32.4)	
Unrelated allogeneic	68 (66.7)	45 (66.2)	23 (67.6)	
HLA				NS
Identical	76 (74.5)	48 (70.6)	28 (82.4)	
9/10 vs 7/8 vs 8/10 match	11/8/7 (10.8/7.8/6.9)	7/8/5 (10.3/12.5/7.3)	1/3/2 (2.9/8.8/5.9)	
ABO compatibility				NS
Identical	60 (58.8)	43 (63.2)	17 (50)	
ABO mismatch	42 (41.2)	25 (36.8)	17 (50)	
Source of stem cell				NS
Peripheral blood/BM	87 (85.3)/15 (14.7)	59 (86.8)/9 (13.2)	28 (82.4)/6 (17.6)	
ATG	18 (17.6)	0 (0)	18 (52.9)	$< 0.001$
Conditioning regimen				$< 0.001$
RIC <sup>b</sup>	77 (76.2)	66 (97.1)	11 (32.4)	
Myeloablative <sup>c</sup>	25 (24.5)	2 (2.9)	23 (67.6)	
Grade III–IV acute GVHD	11 (10.8)	8 (11.8)	3 (8.8)	NS

Abbreviations: ATG = antithymocyte globulin; HSCT = hematopoietic SCT; RIC = reduced-intensity conditioning; SIR = sirolimus; TAC = tacrolimus. <sup>a</sup>Disease stage was reported according to previously described criteria.<sup>36</sup> Early stage (acute leukemia transplanted in first CR, myelodysplastic syndrome transplanted, either untreated or in first CR, CML in first chronic phase and non-Hodgkin lymphoma and multiple myeloma, transplanted untreated or in first CR); intermediate stage (acute leukemia in second CR, CML in all other stages except chronic phase or blast crisis, myelodysplastic syndrome in second CR or in PR and non-Hodgkin lymphoma and multiple myeloma in second complete or PR or stable disease) and advanced stage (acute leukemia in all other disease stages, CML in blast crisis, myelodysplastic syndromes in all other disease stages and multiple myeloma and lymphoma in all disease stages except those defined as early or intermediate). Stage was not applicable for patients with aplastic anemia. <sup>b</sup>RIC: Fudarabine (FLU) 150 mg/m<sup>2</sup> + BU 8–10 mg/kg p.o. or 9.6 mg/kg i.v., FLU (150 mg/m<sup>2</sup>) + melphalan (MEL) 140 mg/m<sup>2</sup>, FLU (150 mg/m<sup>2</sup>) + MEL (140 mg/m<sup>2</sup>) + thiotepa (THIO) 10 mg/kg, FLU (90 mg/m<sup>2</sup>) + MEL (140 mg/m<sup>2</sup>) + Bortezomib (1.3 mg/m<sup>2</sup> i.v. on days  $-9$  and  $-2$ ) ( $n = 2$ ), Yttrium-90 ibritumomab tiuxetan (0.4 mCi/kg) + FLU (150 mg/m<sup>2</sup>) + MEL (140 mg/m<sup>2</sup>) + THIO (10 mg/kg) ( $n = 1$ ); clofarabine (200 mg/m<sup>2</sup>) + MEL (100 mg/m<sup>2</sup>) ( $n = 1$ ); etoposide (40 mg/kg) + Ara-C (18 g/m<sup>2</sup>) ( $n = 1$ ); CY 1200 mg/m<sup>2</sup> + FLU (120 mg/m<sup>2</sup>) + ATG (7.5 mg/kg) + TBI 200 cGy ( $n = 1$ ), FLU (90 mg/m<sup>2</sup>) + once daily i.v. BU (6.4 mg/kg) + THIO (10 mg/kg) ( $n = 1$ ). <sup>c</sup>Myeloablative conditioning: FLU (160 mg/m<sup>2</sup>) + once daily i.v. BU 12.8 mg/kg ( $n = 10$ ); CY 120 mg/kg + TBI 12 Gy  $\times$  6 fractions ( $n = 5$ ); BU 12.8 mg/kg i.v. or 16 mg orally + CY 120 mg/kg ( $n = 5$ ); and others ( $n = 5$ ), consisting of BU (8 mg/kg i.v.) + CY (120 mg/kg) + THIO (750 mg/m<sup>2</sup>) 3, CY (120 mg/kg) + TBI (13.2 Gy  $\times$  11 fractions) 1, CY (120 mg/kg) + TBI (12 Gy  $\times$  6 fractions) + THIO (400 mg/m<sup>2</sup>) 1.

**Table 2.** Clinical, laboratory findings, management and outcome of patients diagnosed with TA-TMA

Age <sup>a</sup> / sex	Group	Schist. per field	EBL/ 100 WBC	LDH (IU/L)	Hb (g/dL)	Platelet count ( $\times 10^9/L$ )	First-line treatment	Second-line treatment	Third-line treatment	Evolution of EBL	Cause of death
38/M	TAC/MTX	8	2	1346	8.1	15	TAC reduction	Vincristine <sup>b</sup>	—	ND	TA-TMA, GI bleeding and pulmonary mucormycosis
59/F	TAC/SIR	1	4	481	9	38	TAC withdrawal	—	—	↓	Relapse
28/M	TAC/MTX	3	3	393	6.6	14	TAC withdrawal, adding CsA	Vincristine <sup>b</sup>	CsA withdrawal, adding MMF	↓	Alive
61/M	TAC/SIR	12	ND	5474	7.3	17	TAC withdrawal	Vincristine <sup>b</sup>	—	ND	TA-TMA, pulmonary aspergillosis, GI bleeding and GVHD
43/F	TAC/MTX	6	22	1350	8.5	28	TAC withdrawal + rituximab <sup>c</sup>	MMF + CsA	CsA withdrawal	↑	TA-TMA, respiratory insufficiency, GI bleeding and GVHD
62/F	TAC/SIR	2	7	818	8.9	36	TAC withdrawal	—	—	↓	Alive
48/M	TAC/SIR	7	2	881	9.6	26	TAC withdrawal + rituximab <sup>c</sup>	SIR withdrawal, adding MMF	—	↑	TA-TMA, pulmonary aspergillosis and GVHD
56/F	TAC/SIR	ND	ND	179	10.7	11	TAC withdrawal + rituximab <sup>c</sup>	Vincristine <sup>b</sup>	—	ND	TA-TMA, disseminated aspergillosis, CMV infection and GVHD

Abbreviations: EBL = erythroblasts; F = female; GI = gastrointestinal; LDH = lactate dehydrogenase; M = male; MMF = mycophenolate mofetil; ND = not determined; Schist = schistocytes; SIR = sirolimus; TA-TMA = transplantation-associated thrombotic microangiopathy; TAC = tacrolimus. <sup>a</sup>Age on the day of HSCT. <sup>b</sup>Vincristine was administered at a dose of 1 mg i.v. on days +1, +4, +8 and +11. <sup>c</sup>Rituximab was administered at a dose of 375 mg/m<sup>2</sup> i.v. weekly  $\times$  4 doses.

the TAC/SIR group ( $53.3 \pm 7.9$  vs  $41.3 \pm 11.9$ ,  $P < 0.001$ ), and a higher proportion of patients received the reduced-intensity conditioning regimen in the TAC/SIR group (97.1% vs 32.4%). Other characteristics are described in Table 1.

**Incidence of TA-TMA**

With a median follow-up of 451 days (range, 28–1946 days), eight out of 102 allogeneic HSCTs developed TA-TMA (7.8%); three out of 34 patients in the TAC/MTX  $\pm$  ATG group (8.8%) and five out of 68 in the TAC/SIR group (7.4%) ( $P = 0.8$ ). The median time from the day of stem cell infusion until diagnosis of TA-TMA was 81 days (range, 39–405 days). Six out of eight patients were diagnosed before the +110 post HSCT.

Clinical and laboratory findings from patients diagnosed with TMA are shown in Table 2. The median age of the patients was 52 years (range, 24–63 years), and there were equal numbers of males and females. Two patients developed TA-TMA after second allogeneic HSCT. Six out of eight patients diagnosed with TA-TMA fulfilled all the TMA criteria; one of the remaining two patients had only one schistocyte per field in peripheral blood, but fulfilled the other criteria, and the second patient did not fulfill all the criteria because neither a peripheral blood smear nor haptoglobin serum levels were available, although there was histological evidence of TA-TMA in a biopsy specimen after colonoscopy for severe diarrhea. Interestingly, in 6/8 patients with an available peripheral blood smear we could detect the presence of erythroblasts both at diagnosis and during TA-TMA evolution. Concurrent renal and/or neurologic dysfunctions were observed in only 3/8 patients diagnosed with TA-TMA.

**Serum levels of immunosuppressive drugs**

TAC levels above the upper limit were observed at least once in 87.5% ( $n = 7/8$ ) of patients before a TA-TMA diagnosis was made and in 88.3% of patients without TA-TMA ( $n = 83/94$ ),  $P = 0.724$ .

TAC levels  $> 25$  ng/mL were observed in 4/8 (50%) patients who developed TA-TMA vs 10/94 (10.6%) patients who did not ( $P = 0.004$ ). The mean number of days with toxic levels of TAC was also significantly greater in patients who developed TA-TMA ( $9 \pm 7$  days) compared with those without TA-TMA ( $4.6 \pm 4.1$  days) ( $P = 0.008$ ).

Within the TAC/SIR group, 41 patients (60%) had levels of SIR  $> 12$  ng/mL at least once, but no association with an increase incidence of TA-TMA was found (7.3% and 7.4% TA-TMA for patients with or without SIR levels above the upper limit at least once, respectively;  $P = 0.99$ ). There were also no differences in terms of TA-TMA incidence with respect to the mean number of days with toxic levels of SIR between patients who developed TA-TMA ( $2.2 \pm 2.3$  days) compared with those who did not ( $2.05 \pm 2.7$ ) ( $P = 0.900$ ).

**Management and outcome of TA-TMA**

The results concerning the management and outcome of TA-TMA are presented in Table 2. The initial treatment strategy for patients who experienced TA-TMA ( $n = 8$ ) was complete withdrawal from ( $n = 7$ ), or dose reduction ( $n = 1$ ) of, TAC. In addition, CYA ( $n = 1$ ) or rituximab ( $n = 3$ ) were added after TAC had been discontinued.

Four out of eight patients achieved CR of TA-TMA. This occurred in two patients after TAC withdrawal alone (both in the TAC/SIR group), in one patient from the TAC/SIR group after discontinuation of TAC and SIR (mycophenolate mofetil was added as GVHD prophylaxis); however, in this patient TA-TMA was subsequently identified in necropsy. In the other patient (from the TAC/MTX group), TAC was substituted by CsA, without response, so vincristine was subsequently administered, also without response. The patient finally responded after substitution of CsA by mycophenolate mofetil.

Of the four patients who did not respond, after TAC withdrawal, three had received vincristine as second-line therapy. The fourth

patient received rituximab as first-line therapy and TAC was substituted by mycophenolate mofetil plus CYA (CsA was subsequently stopped, with no response).

Six out of eight patients who developed TA-TMA died. TA-TMA was a contributing cause of death in the four non-responding patients. In addition to the TA-TMA, other contributing causes of death in the non-responding patients were: GVHD ( $n=3/4$ ), invasive fungal infection ( $n=3/4$ ), CMV infection ( $n=1/4$ ) and hemorrhage ( $n=3/4$ ). Of the responder patients, two died after resolution of TA-TMA (one due to pulmonary aspergillosis and the other due to relapse of her disease); however, in one responder patient TA-TMA was identified in necropsy indicating a misdiagnosed relapse of TA-TMA.

**Risk factors for TA-TMA**

Table 3 shows the results of the univariate analyses carried out to identify variables predicting TA-TMA in allogeneic HSCT recipients and who received TAC-based regimens for GVHD prophylaxis. Lymphoid malignancies, prior HSCT (autologous or allogeneic), conditioning regimens other than FLU + BU at any dose, use of thiotepa, grade III–IV acute GVHD, serum levels of TAC >25 ng/mL, TAC levels at the upper limit for more than 7 days and development of an invasive fungal infection were significantly associated with TA-TMA in the univariate analysis. In multivariate analyses, only grade III–IV acute GVHD, previous HSCT and serum levels of TAC >25 ng/mL were identified as risk factors for developing TA-TMA (Table 4).

We also observed that patients without any of these three risk factors, or with any single factor but without grade III–IV acute GVHD, had a low risk of TA-TMA ( $n=1/86$ , 1.2%). Patients who developed grade III–IV acute GVHD or who had a previous HSCT + serum levels of TAC >25 ng/mL had an intermediate risk of TA-TMA ( $n=3/11$ , 27.3%). Those patients who developed grade III–IV acute GVHD plus previous HSCT and/or serum levels of TAC >25 ng/mL had a very high risk of TA-TMA ( $n=4/5$ , 80%) (Figure 1).

**Prognostic impact of TA-TMA**

The presence of TA-TMA after HSCT was associated with an adverse outcome. In this regard, patients developing TA-TMA had a significantly poorer survival at 6 months and at 15 months than those without TA-TMA (Kaplan–Meier estimate: 37.5% vs 91.4% and 18.8% vs 80.1%, respectively; log-rank test:  $P<0.001$ ) (Figure 2). However, when TA-TMA was included in the multivariate model, it ceased to be an independent prognostic factor ( $P=0.595$ ) probably because of the development of grade III–IV acute GVHD, which was the strongest determinant of TA-TMA development (Table 4), and was also the most powerful factor determining prognosis in our series (HR 12.52; 95% confidence interval: 4.54–34.54,  $P<0.001$ ).

**DISCUSSION**

TA-TMA is an uncommon but feared complication of allogeneic HSCT owing to its high mortality rate (>60%).<sup>2</sup> The exact pathophysiology of TA-TMA remains unclear, but a variety of potential risk factors have been suggested.<sup>1,3,5,8,10–14</sup> The use of TAC plus SIR as GVHD prophylaxis has been associated with an increased incidence of TA-TMA, which ranges from 10.8–55%, the latter in patients who received BU plus CY as part of their conditioning regimen.<sup>17–19,21,22</sup> In a recent phase II multicenter prospective trial conducted by our group, including some of the patients in this study, no differences were observed in the incidence of TA-TMA when TAC/SIR was compared with patients included in a prior prospective trial using CYA–mycophenolate (the overall incidences of TA-TMA were 10% and 6%, respectively).<sup>25</sup> In addition, very few studies<sup>23,24</sup> have evaluated the risk

**Table 3.** Univariate analyses of factors influencing TA-TMA

Variable	N	No. (%) patients with TA-TMA	P-value
Age >45 years	77	5 (6.5)	0.36
Sex (female)	41	4 (9.7)	0.574
Lymphoid malignancy <sup>a</sup>	38	6 (15.8)	0.021
Advanced disease	37	5 (13.5)	0.092
Prior allogeneic HSCT <sup>b</sup>	6	2 (33.3)	0.010
Prior HSCT (autologous or allogeneic)	29	5 (17.2)	0.018
<i>Donor</i>			0.117
Related/unrelated	34/68	4 (11.7)/4 (5.9)	
<i>HLA</i>			0.962
HLA—identical/mismatched	76/26	6 (7.9)/2 (7.7)	
<i>ABO compatibility</i>			0.497
Identical/ABO-mismatched	60/42	4 (6.6)/4 (9.5)	
<i>Source of stem cell</i>			0.762
Peripheral blood/BM	87/15	7 (8)/1 (6.6)	
Myeloablative conditioning	25	2 (8)	0.876
Regimens other than FLU + BU <sup>c</sup>	34	7 (20.6)	0.046
Thiotepa	11	3 (27.3)	0.008
TBI	8	1 (12.5)	0.578
ATG	18	1 (5.5)	0.592
<i>Prophylaxis of GVHD</i>			0.798
TAC/MTX ± ATG	34	3 (8.8)	
TAC/SIR	68	5 (7.4)	
TAC levels above the upper limit	90	7 (7.7)	0.724
Serum levels of TAC >25 ng/mL	14	4 (28.6)	0.004
Toxic levels of TAC for >7 days	24	5 (20.4)	0.016
<i>Acute GVHD</i>			0.000
Grade 0–I	40	0 (0)	
Grade II	51	3 (5.9)	
Grade III–IV	11	5 (45.4)	
CMV reactivation/infection	38	3 (7.9)	0.992
Invasive fungal infection	9	2 (22.2)	0.051

Abbreviations: ATG = antithymocyte globulin; FLU = fludarabine; HSCT = hematopoietic SCT; SIR = sirolimus; TA-TMA = transplantation-associated thrombotic microangiopathy; TAC = tacrolimus. FLU + BU: conditioning regimens containing FLU and BU at any dose. <sup>a</sup>Compared with myeloid malignancies. <sup>b</sup>Compared with first allogeneic HSCT. <sup>c</sup>Compared with FLU + BU conditioning regimens.

of TA-TMA among patients receiving the TAC/SIR combination in comparison with other TAC-based regimens. To shed further light on this matter, we performed a retrospective analysis in 102 allogeneic HSCT recipients who consecutively received TAC/SIR ( $n=68$ ) or TAC/MTX ± ATG ( $n=34$ ) for GVHD prophylaxis.

Unlike previously published evidence,<sup>17,18,21,22</sup> the combination of TAC and SIR did not appear to pose a higher risk of TA-TMA than with TAC/MTX ± ATG. These results are in agreement with a retrospective study in which the incidence of TA-TMA in patients who were given TAC/SIR ± ATG was not significantly different from that in patients who received MTX with TAC or CYA (10.2% vs 4.3%),<sup>23</sup> or with those of a recently randomized phase II trial comparing TAC/SIR with TAC/MTX,<sup>24</sup> although the high incidence of TA-TMA reported in this latter trial (24.3% with TAC/SIR and 18.9% with TAC/MTX) should be noted.<sup>24</sup>

Endothelial cells can be activated and damaged by several factors after HSCT.<sup>5</sup> As this endothelial cell injury is critical for the development of TA-TMA,<sup>3,5,12,27</sup> it is not surprising that grade III–IV

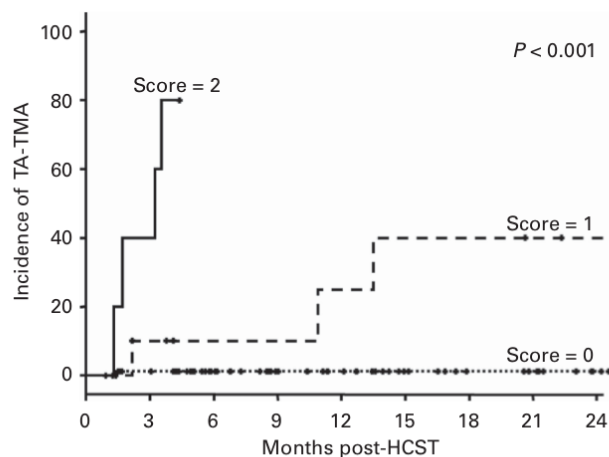
**Table 4.** Multivariate analysis of factors influencing TA-TMA

Variable	P-value	HR	95% CI
Lymphoid malignancy	0.298	—	—
Advanced disease	0.556	—	—
Prior allogeneic HSCT	0.288	—	—
Prior HSCT (autologous or allogeneic)	0.006	12.2	(2.07–71.95)
Use of regimens other than FLU + BU	0.106	—	—
Use of thiotepa	0.277	—	—
Grade III–IV acute GVHD	<0.001	70.48	(7.24–685.6)
Serum levels of TAC >25 ng/mL	0.015	7.34	(1.48–36.3)
Toxic levels of TAC for >7 days	0.257	—	—
Invasive fungal infection	0.051	6.56	(0.99–43.28)

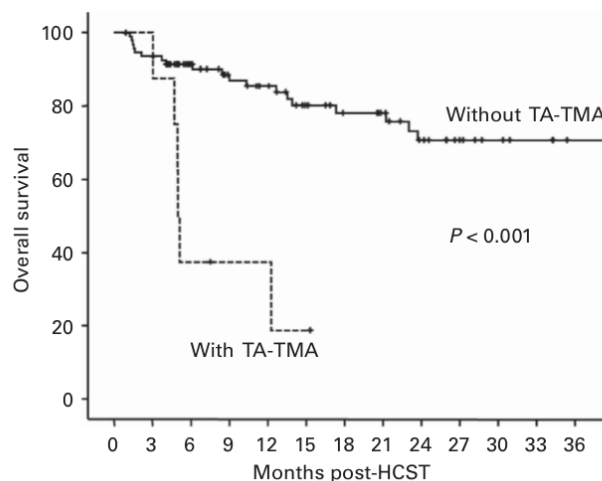
Abbreviations: FLU = fludarabine; HSCT = hematopoietic SCT; TA-TMA = transplantation-associated thrombotic microangiopathy. FLU + BU: conditioning regimens containing FLU and BU at any dose.

acute GVHD was the most important risk factor for TA-TMA in our series. These results are concordant with other reports of close associations between TA-TMA and GVHD.<sup>3,5,8,10–12,14</sup> This may be because, during engraftment, donor T lymphocytes first encounter host endothelial cells.<sup>4</sup> Moreover, increased levels of coagulation factors (Von Willebrand factor, soluble thrombomodulin), inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1, IFN- $\gamma$ , IL-8) associated with cell injury or adhesion molecules (sVCAM-1) have been reported in the setting of acute GVHD, as well as circulating endothelial cells and microparticles to favor platelet aggregation and microthrombosis expressing markers of endothelial activation (CD62, annexin V).<sup>3,5</sup> Interestingly, in a pilot study of TAC/SIR carried out in patients who had not received chemotherapy before the conditioning regimen, none of the patients developed grade III–IV acute GVHD or TA-TMA, which is in favor of TA-TMA caused by GVHD and not by the calcineurin inhibitor.<sup>28</sup> Therefore, aggressive treatment of GVHD is essential. In fact, GVHD achieved a CR in 3/4 responder patients. By contrast, GVHD did not achieved a CR in any of the non-TA-TMA responders, and was a contributing cause of death in the initially responder patient with misdiagnosed TA-TMA relapse.

On the other hand, although the incidence of TA-TMA in our institution (7.8%) was similar to that reported in other studies, it is difficult to compare these results owing to the marked differences among the definitions used.<sup>2</sup> In an attempt to standardize the diagnosis, the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network and the International Working Group proposed their own guidelines.<sup>29,30</sup> Subsequently, a retrospective study was performed in order to validate these proposed criteria.<sup>31</sup> This study noted limitations in the guidelines and introduced the concept of probable TMA, which does not rely on renal or neurological findings.<sup>1</sup> We used probable TMA criteria to reduce the risk of underreporting cases of TA-TMA in our series. In fact, two patients in our study did not fulfill the Clinical Trials Network or International Working Group criteria, another patient was diagnosed by histological findings without fulfilling the clinical criteria and one patient suffered a misdiagnosed relapse (diagnosed by necropsy). Remarkably, both patients who only fulfilled the probable TMA criteria responded to TAC withdrawal alone, whereas none of the other six patients responded to TAC discontinuation ( $P=0.005$ ), which supports the role of GVHD on TA-TMA development and stresses the proper treatment for GVHD. Moreover, this finding is consistent with the fact that an early diagnosis of TA-TMA is crucial in obtaining a faster response and a better clinical evolution of these patients, before the development of an acute kidney injury, as TA-TMA is one of the most common causes of chronic kidney disease after HSCT, which



**Figure 1.** Score for TA-TMA risk assessment. Risk factors for TA-TMA development: grade III–IV acute GVHD, previous hematopoietic SCT and serum levels of tacrolimus >25 ng/mL. Score 0 = no risk factors or previous HSCT or serum levels of tacrolimus >25 ng/mL. Score 1 = Grade III–IV acute GVHD or previous HSCT + serum levels of tacrolimus >25 ng/mL. Score 2 = Grade III–IV acute GVHD + (previous HSCT and/or serum levels of tacrolimus >25 ng/mL).



**Figure 2.** Overall survival of patients with or without TA-TMA.

is supposed to be a worse survival in these patients.<sup>32</sup> In this regard, we have described for the first time the presence of circulating erythroblasts in all patients developing probable TMA. As previously reported by Oberic *et al.*,<sup>33</sup> patients with cancer-associated TMAs had a typical presentation on diagnosis that was clearly distinct from that of idiopathic TMA. In particular, patients usually displayed moderate/massive erythroblastosis in peripheral blood a typical feature at presentation in comparison with patients with an idiopathic TMA. Our results are in agreement with this observation, as the great majority of our patients who developed TMA presented this feature. This fact could help not only for diagnosis, sometimes difficult, but also, and more importantly, adds prognostic information, as all patients achieving a good response show a decrease in the number of circulating erythroblasts. Although our study is limited by the relatively small number of patients, our findings are encouraging enough so as to validate them in further series. Prospective studies analyzing this data should be performed in order to confirm this original observation.

The effect of serum levels of immunosuppressive drugs on the development of TA-TMA has not so far been evaluated effectively.<sup>17,20,34</sup> Our results show that, although levels above the upper normal limit of TAC (> 10 ng/mL in the TAC/SIR group or > 15 ng/mL in the TAC/MTX group) are not associated with TA-TMA, very high levels (> 25 ng/mL) are an independent risk factor for TA-TMA development. Accordingly, correct drug management is crucial to prevent this complication,<sup>17,20,34,35</sup> especially among patients who suffer from compromised organ function, either due to acute GVHD or from transplantation-related morbidity. This close monitoring is especially critical in the first 4 months after transplantation, as 75% of patients with TA-TMA were diagnosed before day +110 post HSCT, mainly when patients have developed severe grade III–IV acute GVHD.

Other studies have reported a trend toward a higher risk of TA-TMA in patients receiving prior myeloablative conditioning.<sup>10,14</sup> In our study, patients who received a prior autologous or allogeneic HSCT were at higher risk of developing TA-TMA. However, in the current study, we found no association between the risk of TA-TMA and the type of conditioning regimen.

The treatment strategies in the eight affected patients varied considerably in our series, which could be explained owing to the lack of consensus about the most appropriate treatment for patients with TA-TMA. The results of the current study, although from a small number of patients, indicate that the initial treatment strategy should include withdrawal of TAC if serum levels are > 25 ng/mL. But, as aggressive treatment of the GVHD should be employed, levels > 25 ng/mL for TAC are a time for holding doses and getting the level into a more appropriate range but perhaps, discontinuation all together is not the correct therapy. The choice of second-line treatment remains unresolved, however.

In conclusion, our findings suggest that the use of TAC/SIR for GVHD prophylaxis does not increase the risk of TA-TMA compared with the TAC/MTX ± ATG regimen. Severe acute GVHD is the major important risk factor for TA-TMA and transplant-related mortality; therefore, efforts should be made to improve GVHD prophylaxis and treatment. This should be counterbalanced by the close monitoring of immunosuppressive drug serum levels so that drug toxicity can be minimized. However, owing to the limitations of this retrospective study with a low number of cases, these results should be confirmed in a prospective large cohort study specifically focused on TA-TMA.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Manuela Salinero, Marta García-Blázquez and Manuel Delgado for their technical assistance, and Phil Mason for English language revision of the manuscript.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

DC and JL conceived the study; JL performed the statistical analysis; JL, LL-C and DC wrote the paper; JL, OL-G and RP-L collected the data and critically reviewed the paper; LL-C, LV, MC-C, MD-C, FS-G, EP-L, CG, IA, JAP-S and DC provided the patients and critically reviewed the paper; all authors approved the final version of the paper.

#### REFERENCES

1 Cho BS, Yahng SA, Lee SE, Eom KS, Kim YJ, Kim HJ *et al*. Validation of recently proposed consensus criteria for thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2010; **90**: 918–926.

2 George JN, Li X, McMinn JR, Terrell DR, Vesely SK, Selby GB. Thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic HPC transplantation: a diagnostic dilemma. *Transfusion* 2004; **44**: 294–304.

3 Batts ED, Lazarus HM. Diagnosis and treatment of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: real progress or are we still waiting? *Bone Marrow Transplant* 2007; **40**: 709–719.

4 Laskin BL, Goebel J, Davies SM, Jodele S. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2011; **118**: 1452–1462.

5 Carreras E, Diaz-Ricart M. The role of the endothelium in the short-term complications of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011; **46**: 1495–1502.

6 Nester CM, Thomas CP. Atypical hemolytic uremic syndrome: what is it, how is it diagnosed, and how is it treated? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; **2012**: 617–625.

7 Kojouri K, George JN. Thrombotic microangiopathy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Oncol* 2007; **19**: 148–154.

8 Nakamae H, Yamane T, Hasegawa T, Nakamae M, Terada Y, Hagihara K *et al*. Risk factor analysis for thrombotic microangiopathy after reduced-intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2006; **81**: 525–531.

9 Hale GA, Bowman LC, Rochester RJ, Benaim E, Heslop HE, Krance RA *et al*. Hemolytic uremic syndrome after bone marrow transplantation: clinical characteristics and outcome in children. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; **11**: 912–920.

10 Worel N, Greinix HT, Leitner G, Mitterbauer M, Rabitsch W, Rosenmayr A *et al*. ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following reduced-intensity conditioning: close association with transplant-associated microangiopathy. *Transfus Apher Sci* 2007; **36**: 297–304.

11 Willems E, Baron F, Seidel L, Frere P, Fillet G, Beguin Y. Comparison of thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic cell transplantation with high-dose or nonmyeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2010; **45**: 689–693.

12 Changsirikulchai S, Myerson D, Guthrie KA, McDonald GB, Alpers CE, Hingorani SR. Renal thrombotic microangiopathy after hematopoietic cell transplant: role of GVHD in pathogenesis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; **4**: 345–353.

13 Siami K, Kojouri K, Swisher KK, Selby GB, George JN, Laszik ZG. Thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an autopsy study. *Transplantation* 2008; **85**: 22–28.

14 Shimoni A, Yeshurun M, Hardan I, Avigdor A, Ben-Bassat I, Nagler A. Thrombotic microangiopathy after allogeneic stem cell transplantation in the era of reduced-intensity conditioning: The incidence is not reduced. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; **10**: 484–493.

15 Sarkodee-Adoo C, Sotirescu D, Sensenbrenner L, Rapoport AP, Cottler-Fox M, Tricot G *et al*. Thrombotic microangiopathy in blood and marrow transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine A. *Transfusion* 2003; **43**: 78–84.

16 Ghez D, Rubio MT, Maillard N, Suarez F, Chandresis MO, Delarue R *et al*. Rapamycin for refractory acute graft-versus-host disease. *Transplantation* 2009; **88**: 1081–1087.

17 Rodriguez R, Nakamura R, Palmer JM, Parker P, Shayani S, Nademanee A *et al*. A phase II pilot study of tacrolimus/sirolimus GVHD prophylaxis for sibling donor hematopoietic stem cell transplantation using 3 conditioning regimens. *Blood* 2010; **115**: 1098–1105.

18 Cutler C, Henry NL, Magee C, Li S, Kim HT, Alyea E *et al*. Sirolimus and thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; **11**: 551–557.

19 Paramesh AS, Grosskreutz C, Florman SS, Gondolesi GE, Sharma S, Kaufman SS *et al*. Thrombotic microangiopathy associated with combined sirolimus and tacrolimus immunosuppression after intestinal transplantation. *Transplantation* 2004; **77**: 129–131.

20 Shayani S, Palmer J, Stiller T, Liu X, Thomas SH, Khuu T *et al*. Thrombotic microangiopathy associated with sirolimus levels following allogeneic hematopoietic cell transplantation with tacrolimus/sirolimus-based GVHD prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; **19**: 298–304.

21 Rosenthal J, Pawlowska A, Bolotin E, Cervantes C, Maroongroge S, Thomas SH *et al*. Transplant-associated thrombotic microangiopathy in pediatric patients treated with sirolimus and tacrolimus. *Pediatr Blood Cancer* 2011; **57**: 142–146.

22 Khaled SK, Palmer J, Stiller T, Senitzer D, Maegawa R, Rodriguez R *et al*. A phase II study of sirolimus, tacrolimus and rabbit anti-thymocyte globulin as GVHD prophylaxis after unrelated-donor PBSC transplant. *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**: 278–283.

23 Rosenbeck LL, Kiel PJ, Kalsekar I, Vargo C, Baute J, Sullivan CK *et al*. Prophylaxis with sirolimus and tacrolimus + antithymocyte globulin reduces the risk of acute graft-versus-host disease without an overall survival benefit following allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; **17**: 916–922.

24 Pidala J, Kim J, Jim H, Kharfan-Dabaja MA, Nishihori T, Fernandez H *et al*. A randomized phase II study to evaluate tacrolimus in combination with sirolimus



- or methotrexate after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica* 2012; **97**: 1882–1889.
- 25 Perez-Simon JA, Martino R, Parody R, Cabrero M, Lopez-Corral L, Valcarcel D *et al*. The combination of Siromilus plus Tacrolimus improves outcome after reduced-intensity conditioning unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation compared with Cyclosporine plus Mycophenolate. *Haematologica* 2012; **98**: 526–532.
- 26 Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J *et al*. 1994 Consensus Conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; **15**: 825–828.
- 27 Biedermann BC, Sahner S, Gregor M, Tsakiris DA, Jeanneret C, Pober JS *et al*. Endothelial injury mediated by cytotoxic T lymphocytes and loss of microvessels in chronic graft versus host disease. *Lancet* 2002; **359**: 2078–2083.
- 28 Ringden O, Remberger M, Dahllof G, Garming-Legert K, Karlsson H, Svenberg P *et al*. Sirolimus and tacrolimus as immune prophylaxis compared to cyclosporine with or without methotrexate in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for non-malignant disorders. *Eur J Haematol* 2011; **87**: 503–509.
- 29 Ho VT, Cutler C, Carter S, Martin P, Adams R, Horowitz M *et al*. Blood and marrow transplant clinical trials network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; **11**: 571–575.
- 30 Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ, Clark RE, George JN, Gratwohl A *et al*. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* 2007; **92**: 95–100.
- 31 Cho BS, Min CK, Eom KS, Kim YJ, Kim HJ, Lee S *et al*. Clinical impact of thrombotic microangiopathy on the outcome of patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; **41**: 813–820.
- 32 Lopes JA, Jorge S. Acute kidney injury following HCT: incidence, risk factors and outcome. *Bone Marrow Transplant* 2011; **46**: 1399–1408.
- 33 Oberic L, Buffet M, Schwarzinger M, Veyradier A, Clabault K, Malot S *et al*. Cancer awareness in atypical thrombotic microangiopathies. *Oncologist* 2009; **14**: 769–779.
- 34 Kharfan-Dabaja MA, Pidala J, Anasetti C. Thrombotic microangiopathy after GVHD prophylaxis with tacrolimus/sirolimus: a call for use of consensus definition in reporting. *Blood* 2010; **115**: 4316–4317; author reply 4317.
- 35 Oran B, Donato M, Aleman A, Hosing C, Korbling M, Detry MA *et al*. Transplant-associated microangiopathy in patients receiving tacrolimus following allogeneic stem cell transplantation: risk factors and response to treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; **13**: 469–477.
- 36 Gratwohl A, Stern M, Brand R, Apperley J, Baldomero H, de Witte T *et al*. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer* 2009; **115**: 4715–4726.



## **CONCLUSIONES**

---



---

***I. Respecto a los eventos tromboembólicos:***

1. La incidencia de eventos tromboembólicos venosos fue relativamente elevada, tanto en la fase precoz (principalmente relacionadas con el catéter venoso central) como en la fase tardía del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH). Sin embargo, no influyó en la supervivencia global de los pacientes.
2. El principal factor de riesgo de trombosis venosa tras el Alo-TPH fue el desarrollo de enfermedad injerto contra huésped (EICH) crónica extensa.

***II. Respecto a las complicaciones hemorrágicas:***

3. Las complicaciones hemorrágicas tras el Alo-TPH fueron más frecuentes y se asociaron con mayor mortalidad que las complicaciones trombóticas.
4. Los principales factores de riesgo para el desarrollo de complicaciones hemorrágicas fueron: La enfermedad avanzada en el momento del Alo-TPH, los regímenes de acondicionamiento mieloablativo, el Alo-TPH de sangre de cordón umbilical, el recibir tratamiento anticoagulante tras el Alo-TPH, desarrollar EICH agudo grado III-IV y microangiopatía trombótica asociada al trasplante (MAT-AT).

***III. Respecto a las complicaciones hemorrágicas amenazantes para la vida:***

5. Las hemorragias amenazantes para la vida también son frecuentes tras el Alo-TPH.
6. La gravedad de las complicaciones hemorrágicas tras el Alo-TPH influyó significativamente en la supervivencia global.
7. La presencia de trombocitopenia grave prolongada, EICH agudo grado III – IV y MAT-AT se asociaron a su desarrollo.

***IV. Respecto a la tromboprolifaxis y al manejo antitrombótico tras el Alo-TPH:***

8. El tratamiento anticoagulante tras el Alo-TPH se asocia a un mayor riesgo de complicaciones hemorrágicas, por lo que la tromboprolifaxis farmacológica sólo debe considerarse con precaución, en pacientes seleccionados (como son aquellos con EICH crónica extensa).

9. Cerca de la mitad de los receptores de un Alo-TPH que tienen un evento tromboembólico venoso no pueden recibir una dosis completa de heparina de bajo peso molecular. Además, las tasas de recurrencia o extensión del trombo y de sangrado clínicamente significativo fueron considerables.

***V. Respecto a la MAT-AT:***

10. La incidencia de MAT-AT en nuestra serie es similar a la descrita en otros estudios.
11. La combinación de tacrolimus y sirolimus (en el Alo-TPH con acondicionamiento de intensidad reducida) no incrementa el riesgo de MAT-AT en comparación con tacrolimus y metotrexato  $\pm$  ATG (en Alo-TPH mieloablatoivo y de intensidad reducida).
12. Por el contrario, identificamos 3 grupos diferentes de riesgo para el desarrollo de MAT-AT en estos pacientes. Los pacientes que habían recibido un trasplante previo (autólogo o alogénico) o que presentaron niveles séricos de tacrolimus superiores a 25 ng/ml, tuvieron un riesgo bajo de MAT-AT. Los pacientes que desarrollaron EICH agudo grado III-IV, o bien, que tuvieron un TPH previo junto con niveles de tacrolimus superiores a 25 ng/ml, presentaron un riesgo intermedio de MAT-AT. Finalmente, el riesgo de MAT-AT fue muy alto en aquellos pacientes que desarrollaron EICH agudo grado III-IV y además recibieron un TPH previo y/o tuvieron niveles séricos de tacrolimus superiores a 25 ng/ml.
13. Desarrollar EICH aguda grave es el factor de riesgo más importante tanto para el desarrollo de MAT-AT como de la mortalidad relacionada con el trasplante; por lo tanto debe hacerse un esfuerzo para mejorar el tratamiento y la profilaxis de la EICH. Esto debe ser contrapesado mediante la estrecha monitorización de los niveles séricos de los inmunosupresores para que la toxicidad farmacológica pueda ser minimizada.

## **BIBLIOGRAFÍA**

---





1. Santos GW. History of bone marrow transplantation. *Clin Haematol* 1983;12:611-39.
2. Osgood EE, Riddle MC, Mathews TJ. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. *Annals of Internal Medicine* 1939;13:357-67.
3. Thomas ED, Blume KG. Historical markers in the development of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999;5:341-6.
4. Jacobson LO, Marks EK, Robson MJ, Gaston EO, Zirkle RE. Effect of spleen protection on mortality following x-irradiation. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1949;34:1538-43.
5. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951;12:197-201.
6. Lorenz E, Congdon CC. Modification of lethal irradiation injury in mice by injection of homologous or heterologous bone. *J Natl Cancer Inst* 1954;14:955-65.
7. Barnes DW, Corp MJ, Loutit JF, Neal FE. Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow; preliminary communication. *Br Med J* 1956;2:626-7.
8. Thomas ED, Lochte HL, Jr., Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med* 1957;257:491-6.
9. Mathe G, Jammet H, Pendic B, et al. [Transfusions and grafts of homologous bone marrow in humans after accidental high dosage irradiation]. *Rev Fr Etud Clin Biol* 1959;4:226-38.
10. Thomas ED, Lochte HL, Jr., Cannon JH, Sahler OD, Ferrebee JW. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 1959;38:1709-16.
11. Mathe G, Amiel JL, Schwarzenberg L, Cattani A, Schneider M. Adoptive immunotherapy of acute leukemia: experimental and clinical results. *Cancer Res* 1965;25:1525-31.
12. Bortin MM. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation* 1970;9:571-87.
13. Dausset J. [Iso-leuko-antibodies]. *Acta Haematol* 1958;20:156-66.
14. van Rood JJ. The detection of transplantation antigens in leukocytes. *Semin Hematol* 1968;5:187-214.
15. Bach FH, Albertini RJ, Joo P, Anderson JL, Bortin MM. Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet* 1968;2:1364-6.

16. 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.
17. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, et al. Hematopoietic SCT in Europe 2013: recent trends in the use of alternative donors showing more haploidentical donors but fewer cord blood transplants. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:476-82.
18. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides, 2013. (Accessed at <http://www.cibmtr.org/Data/Available/Pages/index.aspx>.)
19. Sureda A, Bader P, Cesaro S, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:1037-56.
20. Memoria de Actividad. ONT 2013. Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos. 2013. (Accessed at <http://www.ont.es/infesp/Paginas/Memorias.aspx>.)
21. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 2007;110:4576-83.
22. Eapen M, Klein JP, Ruggeri A, et al. Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood* 2014;123:133-40.
23. Tuve S, Gayoso J, Scheid C, et al. Haploidentical bone marrow transplantation with post-grafting cyclophosphamide: multicenter experience with an alternative salvage strategy. *Leukemia* 2011;25:880-3.
24. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:641-50.
25. Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, et al. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol* 2013;31:1310-6.
26. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1628-33.

27. Giralt S, Estey E, Albitar M, et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood* 1997;89:4531-6.
28. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 1998;91:756-63.
29. Valcarcel D, Martino R, Caballero D, et al. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol* 2008;26:577-84.
30. Majhail NS, Rizzo JD, Lee SJ, et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:348-71.
31. Heslop HE. Overview of hematopoietic stem cell transplantation. In: Hoffman R, Benz EJ, Silverstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J, eds. *Hematology : basic principles and practice*. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Esevier; 2013:1542-5.
32. Billingham RE, Brent L. Quantitative studies on tissue transplantation immunity. IV. Induction of tolerance in newborn mice and studies on the phenomenon of runt disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 1959;242:439-77.
33. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009;373:1550-61.
34. Markey KA, MacDonald KP, Hill GR. The biology of graft-versus-host disease: experimental systems instructing clinical practice. *Blood* 2014;124:354-62.
35. 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.
36. Reshef R, Luger SM, Hexner EO, et al. Blockade of lymphocyte chemotaxis in visceral graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2012;367:135-45.
37. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:389-401 e1.
38. Vogelsang GB, Lee L, Bensen-Kennedy DM. Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant. *Annu Rev Med* 2003;54:29-52.

39. 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.
40. Flowers ME, Inamoto Y, Carpenter PA, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood* 2011;117:3214-9.
41. Loiseau P, Busson M, Balere ML, et al. HLA Association with hematopoietic stem cell transplantation outcome: the number of mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 is strongly associated with overall survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13:965-74.
42. Ratanatharathorn V, Nash RA, Przepiorka D, et al. Phase III study comparing methotrexate and tacrolimus (prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* 1998;92:2303-14.
43. Barker JN, Wagner JE. Umbilical-cord blood transplantation for the treatment of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:526-32.
44. Cahn JY, Klein JP, Lee SJ, et al. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Societe Francaise de Greffe de Moelle et Therapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood* 2005;106:1495-500.
45. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* 2004;104:1923-30.
46. Petersdorf EW, Longton GM, Anasetti C, et al. The significance of HLA-DRB1 matching on clinical outcome after HLA-A, B, DR identical unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 1995;86:1606-13.
47. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood* 2002;100:406-14.
48. Spellman S, Bray R, Rosen-Bronson S, et al. The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure. *Blood* 2010;115:2704-8.
49. Passweg JR, Zhang MJ, Rocha V, et al. Donor characteristics affecting graft failure, graft-versus-host disease, and survival after unrelated donor transplantation with reduced-

---

intensity conditioning for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1869-73.

50. Locatelli F, Lucarelli B, Merli P. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2014;15:23-36.

51. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1143-238.

52. Carreras E, Diaz-Ricart M. The role of the endothelium in the short-term complications of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:1495-502.

53. Panoskaltzis-Mortari A, Griese M, Madtes DK, et al. An official American Thoracic Society research statement: noninfectious lung injury after hematopoietic stem cell transplantation: idiopathic pneumonia syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:1262-79.

54. Yanik GA, Ho VT, Levine JE, et al. The impact of soluble tumor necrosis factor receptor etanercept on the treatment of idiopathic pneumonia syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2008;112:3073-81.

55. Fukuda T, Hackman RC, Guthrie KA, et al. Risks and outcomes of idiopathic pneumonia syndrome after nonmyeloablative and conventional conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003;102:2777-85.

56. Carreras E. Veno-occlusive disease of the liver after hemopoietic cell transplantation. *Eur J Haematol* 2000;64:281-91.

57. Carreras E, Bertz H, Arcese W, 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;92:3599-604.

58. 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.

59. Carreras E, Diaz-Beya M, Rosinol L, Martinez C, Fernandez-Aviles F, Rovira M. The incidence of veno-occlusive disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation has diminished and the outcome improved over the last decade. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1713-20.

60. Carreras E. How I manage sinusoidal obstruction syndrome after haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol* 2015;168:481-91.
61. Carreras E. Early complications after HSCT. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, eds. *The EBMT Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation*. 6<sup>th</sup> ed; 2012:176-95.
62. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2009;113:4992-5001.
63. Rizzo JD, Curtis RE, Socie G, et al. Solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2009;113:1175-83.
64. Porter DL, Alyea EP, Antin JH, et al. NCI First International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Report from the Committee on Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:1467-503.
65. Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood* 2008;112:4371-83.
66. Bleakley M, Riddell SR. Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat Rev Cancer* 2004;4:371-80.
67. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011;3:95ra73.
68. Tsakiris DA, Tichelli A. Thrombotic complications after haematopoietic stem cell transplantation: early and late effects. *Best Pract Res Clin Haematol* 2009;22:137-45.
69. Pihusch V, Rank A, Steber R, et al. Endothelial cell-derived microparticles in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Transplantation* 2006;81:1405-9.
70. Tsakiris DA, Marbet GA, Tichelli A, Gratwohl A, Speck B. [Activation of endothelium-dependent hemostatic factors following bone marrow transplantation]. *Schweiz Med Wochenschr* 1995;125:416-9.
71. Tichelli A, Bucher C, Rovio A, et al. Premature cardiovascular disease after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood* 2007;110:3463-71.
72. Tichelli A, Passweg J, Wojcik D, et al. Late cardiovascular events after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective multicenter study of the Late Effects Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* 2008;93:1203-10.

73. Tichelli A, Gratwohl A. Vascular endothelium as 'novel' target of graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008;21:139-48.
74. Pihusch R, Salat C, Schmidt E, et al. Hemostatic complications in bone marrow transplantation: a retrospective analysis of 447 patients. *Transplantation* 2002;74:1303-9.
75. Gerber DE, Segal JB, Levy MY, Kane J, Jones RJ, Streiff MB. The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood* 2008;112:504-10.
76. Gonsalves A, Carrier M, Wells PS, McDiarmid SA, Huebsch LB, Allan DS. Incidence of symptomatic venous thromboembolism following hematopoietic stem cell transplantation. *J Thromb Haemost* 2008;6:1468-73.
77. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Fisher RI, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism in hospitalized neutropenic cancer patients. *J Clin Oncol* 2006;24:484-90.
78. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Frequency, risk factors, and trends for venous thromboembolism among hospitalized cancer patients. *Cancer* 2007;110:2339-46.
79. Samama MM, Cohen AT, Darmon JY, et al. A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. *N Engl J Med* 1999;341:793-800.
80. Pihusch M, Lohse P, Reitberger J, et al. Impact of thrombophilic gene mutations and graft-versus-host disease on thromboembolic complications after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2004;78:911-8.
81. Nevo S, Enger C, Swan V, et al. Acute bleeding after allogeneic bone marrow transplantation: association with graft versus host disease and effect on survival. *Transplantation* 1999;67:681-9.
82. Bacigalupo A. Haemopoietic stem cell transplants: the impact of haemorrhagic complications. *Blood Rev* 2003;17 Suppl 1:S6-10.
83. Alikhan R, Cohen AT, Combe S, et al. Risk factors for venous thromboembolism in hospitalized patients with acute medical illness: analysis of the MEDENOX Study. *Arch Intern Med* 2004;164:963-8.
84. Samama MM. An epidemiologic study of risk factors for deep vein thrombosis in medical outpatients: the Sirius study. *Arch Intern Med* 2000;160:3415-20.

85. Dumler JS, Beschorner WE, Farmer ER, Di Gennaro KA, Saral R, Santos GW. Endothelial-cell injury in cutaneous acute graft-versus-host disease. *Am J Pathol* 1989;135:1097-103.
86. Holler E, Kolb HJ, Moller A, et al. Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha precede major complications of bone marrow transplantation. *Blood* 1990;75:1011-6.
87. Nawroth PP, Stern DM. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986;163:740-5.
88. Medcalf RL, Kruithof EK, Schleuning WD. Plasminogen activator inhibitor 1 and 2 are tumor necrosis factor/cachectin-responsive genes. *J Exp Med* 1988;168:751-9.
89. Chiusolo P, Sica S, De Stefano V, Casorelli I, Laurenti L, Leone G. Incidence of Factor V Leiden and prothrombin G20210A in patients submitted to stem cell transplantation. *Haematologica* 2000;85:670-1.
90. Kearon C, Kahn SR, Agnelli G, Goldhaber S, Raskob GE, Comerota AJ. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008;133:454S-545S.
91. Lee AY, Kamphuisen PW, Meyer G, et al. Tinzaparin vs Warfarin for Treatment of Acute Venous Thromboembolism in Patients With Active Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2015;314:677-86.
92. de Lima M, Anagnostopoulos A, Munsell M, et al. Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2004;104:865-72.
93. Maris MB, Sandmaier BM, Storer BE, et al. Unrelated donor granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cell transplantation after nonmyeloablative conditioning: the effect of postgrafting mycophenolate mofetil dosing. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:454-65.
94. Uderzo C, Marraro G, Riva A, et al. Pulmonary thromboembolism in leukaemic children undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993;11:201-3.
95. 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.



96. Nevo S, Swan V, Enger C, et al. Acute bleeding after bone marrow transplantation (BMT)- incidence and effect on survival. A quantitative analysis in 1,402 patients. *Blood* 1998;91:1469-77.
97. Nevo S, Fuller AK, Hartley E, Borinsky ME, Vogelsang GB. Acute bleeding complications in patients after hematopoietic stem cell transplantation with prophylactic platelet transfusion triggers of  $10 \times 10^9$  and  $20 \times 10^9$  per L. *Transfusion* 2007;47:801-12.
98. Kaur S, Cooper G, Fakult S, Lazarus HM. Incidence and outcome of overt gastrointestinal bleeding in patients undergoing bone marrow transplantation. *Dig Dis Sci* 1996;41:598-603.
99. Marmaduke DP, Greenson JK, Cunningham I, Herderick EE, Cornhill JF. Gastric vascular ectasia in patients undergoing bone marrow transplantation. *Am J Clin Pathol* 1994;102:194-8.
100. Vishny ML, Blades EW, Creger RJ, Lazarus HM. Role of upper endoscopy in evaluation of upper gastrointestinal symptoms in patients undergoing bone marrow transplantation. *Cancer Invest* 1994;12:384-9.
101. Atkinson K, Biggs JC, Golovsky D, et al. Bladder irrigation does not prevent haemorrhagic cystitis in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1991;7:351-4.
102. Brugieres L, Hartmann O, Travagli JP, et al. Hemorrhagic cystitis following high-dose chemotherapy and bone marrow transplantation in children with malignancies: incidence, clinical course, and outcome. *J Clin Oncol* 1989;7:194-9.
103. deVries CR, Freiha FS. Hemorrhagic cystitis: a review. *J Urol* 1990;143:1-9.
104. Letendre L, Hoagland HC, Gertz MA. Hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Mayo Clin Proc* 1992;67:128-30.
105. Russell SJ, Vowels MR, Vale T. Haemorrhagic cystitis in paediatric bone marrow transplant patients: an association with infective agents, GVHD and prior cyclophosphamide. *Bone Marrow Transplant* 1994;13:533-9.
106. Sencer SF, Haake RJ, Weisdorf DJ. Hemorrhagic cystitis after bone marrow transplantation. Risk factors and complications. *Transplantation* 1993;56:875-9.
107. Thomas AE, Patterson J, Prentice HG, et al. Haemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation patients: possible increased risk associated with prior busulphan therapy. *Bone Marrow Transplant* 1987;1:347-55.
108. Yang CC, Hurd DD, Case LD, Assimos DG. Hemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation. *Urology* 1994;44:322-8.

109. Breuer R, Lossos IS, Berkman N, Or R. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Respir Med* 1993;87:571-9.
110. Dunagan DP, Baker AM, Hurd DD, Haponik EF. Bronchoscopic evaluation of pulmonary infiltrates following bone marrow transplantation. *Chest* 1997;111:135-41.
111. Metcalf JP, Rennard SI, Reed EC, et al. Corticosteroids as adjunctive therapy for diffuse alveolar hemorrhage associated with bone marrow transplantation. University of Nebraska Medical Center Bone Marrow Transplant Group. *Am J Med* 1994;96:327-34.
112. Robbins RA, Linder J, Stahl MG, et al. Diffuse alveolar hemorrhage in autologous bone marrow transplant recipients. *Am J Med* 1989;87:511-8.
113. Schmidt-Wolf I, Schwerdtfeger R, Schwella N, et al. Diffuse pulmonary alveolar hemorrhage after allogeneic bone marrow transplantation. *Ann Hematol* 1993;67:139-41.
114. Soubani AO, Miller KB, Hassoun PM. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Chest* 1996;109:1066-77.
115. Srivastava A, Gottlieb D, Bradstock KF. Diffuse alveolar haemorrhage associated with microangiopathy after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995;15:863-7.
116. Graus F, Saiz A, Sierra J, et al. Neurologic complications of autologous and allogeneic bone marrow transplantation in patients with leukemia: a comparative study. *Neurology* 1996;46:1004-9.
117. Pomeranz S, Naparstek E, Ashkenazi E, et al. Intracranial haematomas following bone marrow transplantation. *J Neurol* 1994;241:252-6.
118. Wiznitzer M, Packer RJ, August CS, Burkey ED. Neurological complications of bone marrow transplantation in childhood. *Ann Neurol* 1984;16:569-76.
119. Nevo S, Enger C, Hartley E, et al. Acute bleeding and thrombocytopenia after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:65-72.
120. Turkeri LN, Lum LG, Uberti JP, et al. Prevention of hemorrhagic cystitis following allogeneic bone marrow transplant preparative regimens with cyclophosphamide and busulfan: role of continuous bladder irrigation. *J Urol* 1995;153:637-40.
121. Shepherd JD, Pringle LE, Barnett MJ, Klingemann HG, Reece DE, Phillips GL. Mesna versus hyperhydration for the prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1991;9:2016-20.
122. Pihusch R, Wegner H, Salat C, et al. Flow cytometric findings in platelets of patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002;30:381-7.

123. Bedi A, Miller CB, Hanson JL, et al. Association of BK virus with failure of prophylaxis against hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1995;13:1103-9.
124. Pihusch R, Salat C, Gohring P, et al. Factor XIII activity levels in patients with allogeneic haematopoietic stem cell transplantation and acute graft-versus-host disease of the gut. *Br J Haematol* 2002;117:469-76.
125. Najima Y, Ohashi K, Miyazawa M, et al. Intracranial hemorrhage following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2009;84:298-301.
126. Pihusch M. Bleeding complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Semin Hematol* 2004;41:93-100.
127. Nevo S, Vogelsang GB. Acute bleeding complications in patients after bone marrow transplantation. *Curr Opin Hematol* 2001;8:319-25.
128. Colosimo M, McCarthy N, Jayasinghe R, Morton J, Taylor K, Durrant S. Diagnosis and management of subdural haematoma complicating bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:549-52.
129. Seber A, Shu XO, Defor T, Sencer S, Ramsay N. Risk factors for severe hemorrhagic cystitis following BMT. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:35-40.
130. Childs R, Sanchez C, Engler H, et al. High incidence of adeno- and polyomavirus-induced hemorrhagic cystitis in bone marrow allotransplantation for hematological malignancy following T cell depletion and cyclosporine. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:889-93.
131. George JN, Li X, McMinn JR, Terrell DR, Vesely SK, Selby GB. Thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic HPC transplantation: a diagnostic dilemma. *Transfusion* 2004;44:294-304.
132. Jodele S, Laskin BL, Dandoy CE, et al. A new paradigm: Diagnosis and management of HSCT-associated thrombotic microangiopathy as multi-system endothelial injury. *Blood Rev* 2015;29:191-204.
133. Kersting S, Koomans HA, Hene RJ, Verdonck LF. Acute renal failure after allogeneic myeloablative stem cell transplantation: retrospective analysis of incidence, risk factors and survival. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:359-65.
134. Parikh CR, McSweeney P, Schrier RW. Acute renal failure independently predicts mortality after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplant. *Kidney Int* 2005;67:1999-2005.

135. Laskin BL, Goebel J, Davies SM, Jodele S. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2011;118:1452-62.
136. Jodele S, Davies SM, Lane A, et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: a study in children and young adults. *Blood* 2014;124:645-53.
137. Batts ED, Lazarus HM. Diagnosis and treatment of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: real progress or are we still waiting? *Bone Marrow Transplant* 2007;40:709-19.
138. Changsirikulchai S, Myerson D, Guthrie KA, McDonald GB, Alpers CE, Hingorani SR. Renal thrombotic microangiopathy after hematopoietic cell transplant: role of GVHD in pathogenesis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:345-53.
139. Siami K, Kojouri K, Swisher KK, Selby GB, George JN, Laszik ZG. Thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an autopsy study. *Transplantation* 2008;85:22-8.
140. Perkowska-Ptasinska A, Sulikowska-Rowinska A, Pazik J, Komuda-Leszek E, Durlik M. Thrombotic nephropathy and pulmonary hypertension following autologous bone marrow transplantation in a patient with acute lymphoblastic leukemia: case report. *Transplant Proc* 2006;38:295-6.
141. Kojouri K, George JN. Thrombotic microangiopathy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Oncol* 2007;19:148-54.
142. George JN. Hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy: defining a disorder. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:917-8.
143. Cho BS, Yahng SA, Lee SE, et al. Validation of recently proposed consensus criteria for thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2010;90:918-26.
144. Nakamae H, Yamane T, Hasegawa T, et al. Risk factor analysis for thrombotic microangiopathy after reduced-intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2006;81:525-31.
145. Willems E, Baron F, Seidel L, Frere P, Fillet G, Beguin Y. Comparison of thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic cell transplantation with high-dose or nonmyeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:689-93.
146. Uderzo C, Bonanomi S, Busca A, et al. Risk factors and severe outcome in thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* 2006;82:638-44.

147. Laskin BL, Goebel J, Davies SM, et al. Early clinical indicators of transplant-associated thrombotic microangiopathy in pediatric neuroblastoma patients undergoing auto-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:682-9.
148. Hale GA, Bowman LC, Rochester RJ, et al. Hemolytic uremic syndrome after bone marrow transplantation: clinical characteristics and outcome in children. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:912-20.
149. Worel N, Greinix HT, Leitner G, et al. ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following reduced-intensity conditioning: close association with transplant-associated microangiopathy. *Transfus Apher Sci* 2007;36:297-304.
150. Cutler C, Henry NL, Magee C, et al. Sirolimus and thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:551-7.
151. Rodriguez R, Nakamura R, Palmer JM, et al. A phase II pilot study of tacrolimus/sirolimus GVHD prophylaxis for sibling donor hematopoietic stem cell transplantation using 3 conditioning regimens. *Blood* 2010;115:1098-105.
152. Rosenthal J, Pawlowska A, Bolotin E, et al. Transplant-associated thrombotic microangiopathy in pediatric patients treated with sirolimus and tacrolimus. *Pediatr Blood Cancer* 2011;57:142-6.
153. Platzbecker U, von Bonin M, Goekkurt E, et al. Graft-versus-host disease prophylaxis with everolimus and tacrolimus is associated with a high incidence of sinusoidal obstruction syndrome and microangiopathy: results of the EVTAC trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:101-8.
154. Paramesh AS, Grosskreutz C, Florman SS, et al. Thrombotic microangiopathy associated with combined sirolimus and tacrolimus immunosuppression after intestinal transplantation. *Transplantation* 2004;77:129-31.
155. Perez-Simon JA, Martino R, Parody R, et al. The combination of Siromilus plus Tacrolimus improves outcome after reduced-intensity conditioning unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation compared with Cyclosporine plus Mycophenolate. *Haematologica* 2012.
156. Rosenbeck LL, Kiel PJ, Kalsekar I, et al. Prophylaxis with sirolimus and tacrolimus +/- antithymocyte globulin reduces the risk of acute graft-versus-host disease without an overall survival benefit following allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:916-22.

157. Pidala J, Kim J, Jim H, et al. A randomized phase II study to evaluate tacrolimus in combination with sirolimus or methotrexate after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica* 2012.
158. Cooke KR, Jannin A, Ho V. The contribution of endothelial activation and injury to end-organ toxicity following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:23-32.
159. Biedermann BC. Vascular endothelium and graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008;21:129-38.
160. Takatsuka H, Takemoto Y, Yamada S, et al. Complications after bone marrow transplantation are manifestations of systemic inflammatory response syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:419-26.
161. Cho BS, Min CK, Eom KS, et al. Clinical impact of thrombotic microangiopathy on the outcome of patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:813-20.
162. Mii A, Shimizu A, Kaneko T, et al. Renal thrombotic microangiopathy associated with chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pathol Int* 2011;61:518-27.
163. Mii A, Shimizu A, Masuda Y, et al. Renal thrombotic microangiopathy associated with chronic humoral graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Pathol Int* 2011;61:34-41.
164. Hingorani SR, Seidel K, Lindner A, Aneja T, Schoch G, McDonald G. Albuminuria in hematopoietic cell transplantation patients: prevalence, clinical associations, and impact on survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:1365-72.
165. Brukamp K, Doyle AM, Bloom RD, Bunin N, Tomaszewski JE, Cizman B. Nephrotic syndrome after hematopoietic cell transplantation: do glomerular lesions represent renal graft-versus-host disease? *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:685-94.
166. Ho VT, Cutler C, Carter S, et al. Blood and marrow transplant clinical trials network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:571-5.
167. Chang A, Hingorani S, Kowalewska J, et al. Spectrum of renal pathology in hematopoietic cell transplantation: a series of 20 patients and review of the literature. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:1014-23.

168. Lopes da Silva R, Ferreira I, Teixeira G, et al. BK virus encephalitis with thrombotic microangiopathy in an allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipient. *Transpl Infect Dis* 2011;13:161-7.
169. Moore I, Strain L, Pappworth I, et al. Association of factor H autoantibodies with deletions of CFHR1, CFHR3, CFHR4, and with mutations in CFH, CFI, CD46, and C3 in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2010;115:379-87.
170. Zipfel PF, Mache C, Muller D, Licht C, Wigger M, Skerka C. DEAP-HUS: deficiency of CFHR plasma proteins and autoantibody-positive form of hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2010;25:2009-19.
171. Jodele S, Licht C, Goebel J, et al. Abnormalities in the alternative pathway of complement in children with hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2013;122:2003-7.
172. Holmes LV, Strain L, Staniforth SJ, et al. Determining the population frequency of the CFHR3/CFHR1 deletion at 1q32. *PLoS One* 2013;8:e60352.
173. Glezerman IG, Jhaveri KD, Watson TH, et al. Chronic kidney disease, thrombotic microangiopathy, and hypertension following T cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:976-84.
174. Hoffmeister PA, Hingorani SR, Storer BE, Baker KS, Sanders JE. Hypertension in long-term survivors of pediatric hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:515-24.
175. Hingorani S. Chronic kidney disease after liver, cardiac, lung, heart-lung, and hematopoietic stem cell transplant. *Pediatr Nephrol* 2008;23:879-88.
176. Hingorani S. Chronic kidney disease in long-term survivors of hematopoietic cell transplantation: epidemiology, pathogenesis, and treatment. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1995-2005.
177. Chan GS, Lam MF, Au WY, et al. Clinicopathologic analysis of renal biopsies after haematopoietic stem cell transplantation. *Nephrology (Carlton)* 2008;13:322-30.
178. Schwarz A, Haller H, Schmitt R, et al. Biopsy-diagnosed renal disease in patients after transplantation of other organs and tissues. *Am J Transplant* 2010;10:2017-25.
179. Troxell ML, Pilapil M, Miklos DB, Higgins JP, Kambham N. Renal pathology in hematopoietic cell transplantation recipients. *Mod Pathol* 2008;21:396-406.
180. Hewamana S, Austen B, Murray J, Johnson S, Wilson K. Intestinal perforation secondary to haematopoietic stem cell transplant associated thrombotic microangiopathy. *Eur J Haematol* 2009;83:277.

181. Inamoto Y, Ito M, Suzuki R, et al. Clinicopathological manifestations and treatment of intestinal transplant-associated microangiopathy. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:43-9.
182. Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ, et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* 2007;92:95-100.
183. El-Seisi S, Gupta R, Clase CM, Forrest DL, Milandinovic M, Couban S. Renal pathology at autopsy in patients who died after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003;9:683-8.
184. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2010;363:2091-101.
185. Shayani S, Palmer J, Stiller T, et al. Thrombotic microangiopathy associated with sirolimus level after allogeneic hematopoietic cell transplantation with tacrolimus/sirolimus-based graft-versus-host disease prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:298-304.
186. Oran B, Donato M, Aleman A, et al. Transplant-associated microangiopathy in patients receiving tacrolimus following allogeneic stem cell transplantation: risk factors and response to treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13:469-77.
187. Wolff D, Wilhelm S, Hahn J, et al. Replacement of calcineurin inhibitors with daclizumab in patients with transplantation-associated microangiopathy or renal insufficiency associated with graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:445-51.
188. Jodele S, Laskin BL, Goebel J, et al. Does early initiation of therapeutic plasma exchange improve outcome in pediatric stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy? *Transfusion* 2013;53:661-7.
189. Mateos J, Perez-Simon JA, Caballero D, et al. Vincristine is an effective therapeutic approach for transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:337-8.
190. Daly AS, Hasegawa WS, Lipton JH, Messner HA, Kiss TL. Transplantation-associated thrombotic microangiopathy is associated with transplantation from unrelated donors, acute graft-versus-host disease and venoocclusive disease of the liver. *Transfus Apher Sci* 2002;27:3-12.
191. Silva VA, Frei-Lahr D, Brown RA, Herzig GP. Plasma exchange and vincristine in the treatment of hemolytic uremic syndrome/thrombotic thrombocytopenic purpura associated with bone marrow transplantation. *J Clin Apher* 1991;6:16-20.
192. Marr H, McDonald EJ, Merriman E, et al. Successful treatment of transplant-associated microangiopathy with rituximab. *N Z Med J* 2009;122:72-4.



193. Carella AM, D'Arena G, Greco MM, Nobile M, Cascavilla N. Rituximab for allo-SCT-associated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:1063-5.
194. Au WY, Ma ES, Lee TL, et al. Successful treatment of thrombotic microangiopathy after haematopoietic stem cell transplantation with rituximab. *Br J Haematol* 2007;137:475-8.
195. Uderzo C, Fumagalli M, De Lorenzo P, et al. Impact of thrombotic thrombocytopenic purpura on leukemic children undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:1005-9.
196. Corti P, Uderzo C, Tagliabue A, et al. Defibrotide as a promising treatment for thrombotic thrombocytopenic purpura in patients undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:542-3.
197. Legendre CM, Licht C, Loirat C. Eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013;369:1379-80.
198. Jodele S, Fukuda T, Vinks A, et al. Eculizumab therapy in children with severe hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:518-25.
199. Schulman S, Kearon C. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in non-surgical patients. *J Thromb Haemost* 2005;3:692-4.
200. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995;15:825-8.
201. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980;69:204-17.
202. 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.
203. Jones RJ, Lee KS, Beschoner WE, et al. Venooclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987;44:778-83.



**MATERIAL DERIVADO DE LOS**

**TRABAJOS**



## PUBLICACIONES EN REVISTAS

Labrador J, López-Anglada L, Pérez-López E, Lozano FS, López-Corral L, Sánchez-Guijo FM, Vázquez L, Pérez-Rivera JA, Martín-Herrero F, Sánchez-Barba M, Guerrero C, del Cañizo MC, Caballero MD, San Miguel JF, Alberca I, González-Porras JR. “Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients”. *Haematologica*. 2013 **Mar;98(3):437-43**.

Labrador J, González-Porras JR. “The balance between thrombosis and bleeding in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients”. *J Hematol Thromb Dis*. 2014 **Jan;2: e105**. Artículo de revisión solicitado por el equipo editorial de la revista, para su posterior publicación como Editorial.

Labrador J, Gonzalez Rivero J, , Lopez-Corral L, Monroy R, Lozano FS, Caballero MD, BastidaJM, Gonzalez-Porras JR. “Management patterns and outcomes in symptomatic non-catheter related venous thromboembolism following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation”. *Submitted for publication*.

Labrador J, López-Corral L, Vazquez L, Sánchez-Guijo F, Guerrero C, Sánchez-Barba M, Lozano FS, Alberca I, del Cañizo MC, Caballero D, González-Porras JR. “Incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic stem cell transplant”. *Br J Haematol*. 2015 **Jun;169(5):719-25**.

Padilla-Fernandez B, Bastida-Bermejo JM, Virseda-Rodriguez AJ, Labrador-Gomez J, Caballero-Barrigon D, Silva-Abuin JM, San Miguel-Izquierdo JF, Lorenzo-Gomez MF. “Hemorrhagic cystitis after bone marrow transplantation”. *Arch Esp Urol*. 2014 **Mar;67(2):167-74**. La recogida de la información utilizada en esta tesis sirvió para hacer un estudio específico en cistitis hemorrágica con el objetivo de estudiar las características de los pacientes que sufren cistitis hemorrágica tras Alo-TPH en nuestro centro. Concluimos que la cistitis hemorrágica es una patología de alta prevalencia en pacientes sometidos a Alo-TPH (10%). El inicio de los síntomas ocurre a los 54 días post-TPH en aquellos pacientes sin documentación microbiológica (17%), posiblemente relacionada con la ciclofosfamida, busulfan o la ICT utilizados en el acondicionamiento; y a los 73 días de media, en aquellos pacientes con documentación microbiológica (73%), siendo los poliomavirus los virus más frecuentemente documentados. El urólogo participa poco en el manejo de esta patología,

sólo en 8 de los 52 pacientes se solicitó interconsulta al urólogo, principalmente por dolor vesical y uretral y hematuria exanguinante. La SG media de los pacientes con cistitis hemorrágica fue de 36 meses, pero en ninguno de los casos fue la causa de la muerte. La cistitis exanguinante sucedió en torno al 60% de los pacientes que fallecieron presentaron cistitis exanguinante, mientras que sólo la presentaron el 10% de los pacientes que siguen vivos.

Labrador J, López-Corral L, López-Godino O, Vázquez L, Cabrero-Calvo M, Pérez-López R, Díez-Campelo M, Sánchez-Guijo F, Pérez-López E, Guerrero C, Alberca I, del Cañizo MC, Pérez-Simón JA, González-Porras JR, Caballero D. “Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving graft versus host disease prophylaxis with tacrolimus plus methotrexate or sirolimus”. *Bone Marrow Transplant* 2014 May; 49(5): 684-90.

## COMUNICACIONES Y PÓSTERS A CONGRESOS:

### COMUNICACIONES ORALES:

Labrador J, Sánchez-Barba M, López-Corral L, Vázquez L, Sánchez-Guijo F, Pérez-López E, Cabrero-Calvo M, López-Godino O, Guerrero C, Alberca I, del Cañizo MC, Caballero D, González-Porras JR. “Incidence and risk factors for life-threatening bleeding after allogeneic stem cell transplant”. *40th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. Lugar: Milán (Italia). Año: 2014. Revista: Bone Marrow Transplant 2014; 49 (Supplement 1s): S41; (PH-O076) doi:10.1038/bmt.2014.43.*

Labrador J, López-Corral L, López-Godino O, Vázquez L, Cabrero-Calvo M, Pérez-López R, Pérez-López E, Guerrero C, Sánchez-Guijo FM, Pérez-Simón JA, Alberca I, del Cañizo MC, González-Porras JR y Caballero MD. “Factores de riesgo de microangiopatía trombótica asociada a trasplante en receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos que recibieron profilaxis para enfermedad injerto contra huésped con tacrolimus más metotrexate o más sirolimus”. *XXXI Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Hematología y Hemoterapia. Lugar: Ávila. Año: 2013.*

Labrador J, López-Corral L, López-Godino O, Vázquez L, Cabrero-Calvo M, Pérez-López R, Pérez-López E, Guerrero C, Alberca I, Pérez-Simón JA, San Miguel JF, González-Porras JR, Caballero MD. “Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic haematopoietic stem cell recipients receiving graft-versus-host disease prophylaxis with tacrolimus plus methotrexate or sirolimus”. **39<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Lugar: Londres (Reino Unido). Año: 2013. Revista: Bone Marrow Transplant Apr 2013; 48 (Supplement 2s): S58 (O372).**

Labrador J, González-Porras JR, Sánchez-Barba M, Pérez-López E, López-Anglada L, Cabrero M, Caballero D. “Impacto de las complicaciones hemorrágicas y trombóticas tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos”. **XXX Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Hematología y Hemoterapia. Lugar: Zamora. Año: 2012.**

### **PÓSTERS:**

Labrador J, López-Godino O, López-Corral L, Pérez-López E, Cabrero-Calvo M, Pérez-López R, Bastida JM, López-Parra M, Alberca I, González-Porras JR, Caballero D. “Severe Gut Acute Graft Versus host Disease (GVHD) Influence Thrombotic Microangiopathy in 86 Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Recipients Who Received Tacrolimus-Based Regimen for GVHD Prophylaxis”. **2012 Annual Meeting of the American Society of Hematology. Lugar: Atlanta, Georgia (Estados Unidos). Año: 2012. Revista: Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2012; 120: 1955.**

Labrador J, Pérez-López E, Cabrero M, López-Anglada L, Lozano FS, López-Corral L, Sánchez-Guijo FM, Vázquez L, Pérez-Rivera JA, Martín-Herrero F, Sánchez-Barba M, Guerrero C, del Cañizo MC, Caballero MD, San Miguel JF, Alberca I, González-Porras JR. “Impacto de las complicaciones trombóticas y hemorrágicas tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos”. **LIV Reunión Nacional de la SEHH y XXVII Congreso Nacional de la SETH. Lugar: Salamanca. Año: 2012.**

Labrador J, Pérez-López E, López-Anglada L, Vázquez L, Lozano F, Alberca I, López-Corral L, Sánchez-Barba M, Sánchez-Guijo FM, Caballero D, San Miguel JF, González-Porras JR. “Thrombotic and hemorrhagic events after allogeneic hematologic stem cell transplantation: Analysis of 443 consecutive patients in a single institution”. **17<sup>th</sup> Congress of the European Hematology Association. Lugar de celebración:**

*Amsterdam (Holanda). Año: 2012. Revista: Haematologica 2012; 97 (Suppl. 1): 181-2 (0451).*

## **PREMIOS:**

**Premio del Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular (GETH) a la mejor publicación clínica sobre trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) publicada en 2013:**

Analysis of incidence, risk factors and clinical outcome of thromboembolic and bleeding events in 431 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients.

Haematologica. 2013 Mar;98(3):437-43. doi: 10.3324/haematol.2012.069559.

Labrador J, López-Anglada L, Pérez-López E, Lozano FS, López-Corral L, Sánchez-Guijo FM, Vázquez L, Pérez-Rivera JA, Martín-Herrero F, Sánchez-Barba M, Guerrero C, del Cañizo MC, Caballero MD, San Miguel JF, Alberca I, González-Porras JR.

**Premio a la segunda mejor comunicación presentada en el XXX Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Hematología y Hemoterapia. Zamora. Marzo 2012.** Por “Impacto de las complicaciones hemorrágicas y trombóticas tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos”.





