

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**



**“TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYETICOS
DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL EN NIÑOS
MEXICANOS CON ENFERMEDADES HEMATO
ONCOLÓGICAS MALIGNAS ”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
QUE PRESENTA**

**DRA. MONTSERRAT HERNANDEZ
GARCIA**

**PARA OBTENER EL TITULO DE: ESPECIALISTA EN
MEDICINA ONCOLOGÍA PEDIATRICA**

**DR. MARTIN PEREZ GARCIA
TUTOR**

**DR. ALBERTO OLAYA VARGAS
CO - TUTOR**

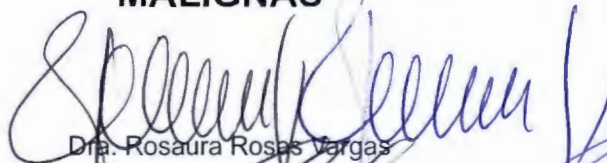


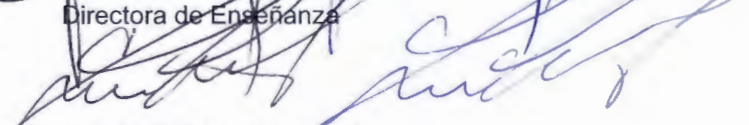
**C I D
NO CIRCULA**

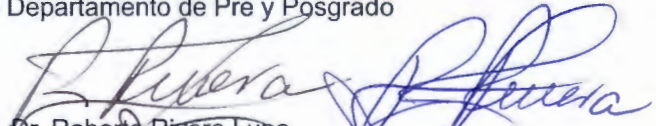


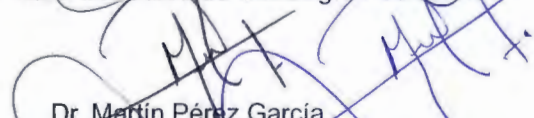
MÉXICO, D.F. MARZO 2013

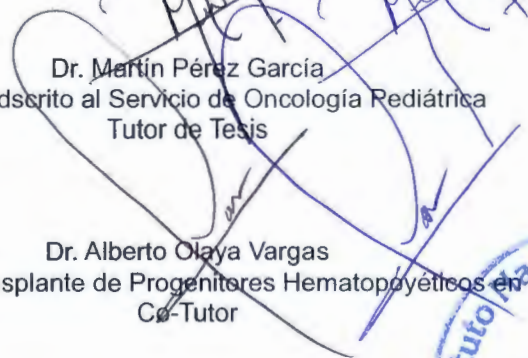
**“TRASPLANTE DE PROGENITORES
HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE DE CORDÓN
UMBILICAL EN NIÑOS MEXICANOS CON
ENFERMEDADES HEMATO ONCOLÓGICAS
MALIGNAS”**



Dra. Rosaura Rosas Vargas
Directora de Enseñanza


Dr. Luis Martín Garrido García
Jefe del Departamento de Pre y Posgrado


Dr. Roberto Rivera Luna
Profesor Titular del Curso de Oncología Pediátrica


Dr. Martín Pérez García
Médico Adscrito al Servicio de Oncología Pediátrica
Tutor de Tesis


Dr. Alberto Olaya Vargas
Jefe de Servicio de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos en Pediatría.
Co-Tutor


Dra Martha Zapata Tarres.
Médico Adscrito al Servicio de Oncología Pediátrica
Asesor metodológico





Instituto Nacional de Pediatría

1. TÍTULO DE TESIS: "TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL EN NIÑOS MEXICANOS CON ENFERMEDADES HEMATO ONCOLÓGICAS MALIGNAS "

Servicio de Oncología Pediátrica

TESISTA:

Dra. Montserrat Hernández García.
Medico Residente del Curso de Oncología Pediátrica.
Instituto Nacional de Pediatría.

TUTOR:

Dr Martín Pérez García.
Médico Adscrito al Servicio de Oncología y Profesor adjunto del Curso de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos en Pediatría. Instituto Nacional de Pediatría.

COTUTOR:

Dr. Alberto Olaya Vargas .
Jefe de Servicio de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos en Pediatría.
Instituto Nacional de Pediatría.

COLABORADORES:

Dra Martha Zapata Tarres.
Médico Adscrito al Servicio de Oncología Pediátrica. Instituto Nacional de Pediatría
Dr Chiharu Murata
Investigador en Ciencias Médicas . Instituto Nacional de Pediatría.

1. RESUMEN ESTRUCTURADO

TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYETICOS DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL EN NIÑOS MEXICANOS CON ENFERMEDADES HEMATO ONCOLÓGICAS MALIGNAS

Hernández García Montserrat, Pérez García Martín, Olaya Vargas Alberto, Zapata Tarrés Marta, Chiharu Murata. Instituto Nacional de Pediatría

INTRODUCCIÓN: El uso de sangre de cordón umbilical (SCU) como fuente celular para el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en pacientes con neoplasias hemato-oncológicas de alto riesgo es cada vez más frecuente, en vista de que sólo el 30% de los pacientes que lo necesita tiene un donador relacionado 100% compatible.

METODOLOGIA: Se realizó estudio de una serie de casos de 25 niños con leucemia aguda linfoblástica (LAL) o leucemia aguda mieloblástica (LAM) con criterios de trasplante. Fueron tratados con un TPH de SCU, posterior a un régimen de acondicionamiento mieloablativo. Se realizó análisis univariado y bivariado. Se compararon los grupos con chi cuadrada. Las curvas de supervivencia global y libre de evento se realizaron mediante el método de Kaplan Meier comparando los resultados con log rank, utilizando el SPSS 15.

RESULTADOS: La supervivencia global fue de 43% y la libre de evento de 41% a 50 meses para leucemias agudas. En LLA la supervivencia global fue de 66% y la libre de enfermedad de 30%. En LMA, la supervivencia global fue de 66% y libre de enfermedad de 64%. Los niños que recibieron un TPH con una sola unidad de cordón umbilical tuvieron una mejor supervivencia que aquellos que recibieron 2 unidades de cordón (58% y 30% respectivamente). El grupo que recibió un dosis celular mayor de 2×10^5 /kg tuvo una supervivencia global a 50 meses en comparación con el que recibió dosis menor de 2×10^5 /kg. La principal causa de muerte en pacientes que no injertaron fueron complicaciones infecciosas, la segunda causa de muerte fue recaída de la enfermedad. Las recaídas se presentaron en los primeros 12 meses posteriores al trasplante. El 66% de los pacientes que recayeron tenían falla primaria de injerto. La principal causa de mortalidad fueron complicaciones infecciosas en pacientes neutropénicos sin evidencia de injerto, del total de la serie 60% de los pacientes no injertaron, de los cuales el 75% falleció.

CONCLUSIONES: El TPH es una modalidad terapéutica efectiva en el tratamiento de neoplasias hemato-oncológicas malignas. El tipo de leucemia es, como está descrito un factor determinante. El número de cordones y la celularidad no resultaron estadísticamente significativos para la presencia de injerto a diferencia de lo que se reporta en la literatura internacional aunque pudiera ser por el tamaño de la muestra. Es necesario el estudio de otros factores como viabilidad celular y clonogenicidad de los progenitores hematopoyéticos de las unidades de SCU para evaluarlos previo a la realización de un trasplante con la finalidad de elegir las mejores unidades de cordón umbilical que favorezcan la presencia de injerto y con ello la supervivencia.

3. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TAPH) de donador relacionado compatible se ha utilizado exitosamente en el tratamiento curativo de niños y adultos con neoplasias hematológicas malignas, inmunodeficiencias, errores innatos del metabolismo, hemoglobinopatías y síndromes de falla medular.

Uno de los principales retos en el trasplante de TAPH es la falta de donador relacionado compatible. Con el objetivo de solucionar éste problema en 1986 se estableció el NMDP (National Marrow Donor Program). A pesar del éxito de dicho programa, no siempre se encontraba a un donador compatible en HLA (Human Leucocyte Antigen) de médula ósea ó sangre periférica para todos los pacientes, por lo anterior surgió la necesidad de utilizar una fuente celular alternativa de donador no relacionado compatible que fuera aceptable.

Fue en 1982 cuando Edward A. Boyse (experto en inmunogenética), Hal Broxmeyer (experto en hematopoyesis y progenitores hematopoyéticos) y Judith Bard consideraron por primera vez la posibilidad de utilizar las células de la sangre de cordón umbilical como fuente celular para trasplante de progenitores hematopoyéticos. Se realizaron los primeros estudios *in vitro* con progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical (SCU), y posteriormente *in vivo* en modelos murinos. Durante el curso de los experimentos, un número considerable de unidades de cordón umbilical fueron criopreservadas y almacenadas en congeladores con nitrógeno líquido en la Escuela de Medicina de la Universidad de Indiana para su potencial uso clínico posterior, siendo éste el primer bosquejo de banco de cordón umbilical en la historia. Posteriormente se desarrollaron experimentos con ratones que recibieron dosis letales de radioterapia que se rescataron con trasplante de progenitores hematopoyéticos obtenidos de SCU, que fueron suficientes para reconstituir la hematopoyesis.

En 1988 Gluckmann y colaboradores realizaron el primer TAPH de sangre de cordón umbilical en un niño de 5 años con Anemia de Fanconi, el donador fue su hermana HLA idéntica, se hizo la colecta en el New York Medical Center, se trasladó a Indiana donde se criopreservó y se envió a Paris donde el paciente recibió el acondicionamiento pretrasplante. El paciente presentó injerto sostenido y sobrevive actualmente, sin manifestaciones hematológicas de la enfermedad que motivó el trasplante. A éste trasplante siguieron otros 4 trasplantes de cordón, uno de ellos realizado por primera vez en una enfermedad hemato oncológica maligna: leucemia juvenil mielomonocítica, con buenos resultados. En 1991 se realizó trasplante de progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical a 2 niños con leucemia, ambos recibieron regímenes de acondicionamiento mieloablativos y como fuente celular el cordón umbilical de un donador relacionado compatible.

Después de éstas primeras experiencias de trasplante exitoso utilizando SCU, el uso de dicha modalidad se ha extendido a lo largo del mundo, inicialmente éstos trasplantes se reportaban en el internacional Cord Blood Transplant Registry, actualmente se estima que alrededor de 400,000 unidades de cordón umbilical se encuentran almacenadas en bancos de cordón umbilical y al menos se han realizado 6000 trasplantes de CU en el mundo, ya que se utiliza ésta fuente celular para el trasplante en pacientes con enfermedades hemato-oncológicas malignas.

La SCU como la fuente de progenitores hematoyéticos para trasplante alogénico en éste contexto se utiliza cada vez con mayor frecuencia ya que posee ventajas como :

disponibilidad para uso inmediato, no representa riesgos para el donador, probabilidad muy escasa de transmisión enfermedades infecciosas (particularmente infecciones por citomegalovirus), permite mayor grado de incompatibilidad entre donador y receptor, tiene la posibilidad de ser criopreservada y almacenada por largos períodos de tiempo.

En diversos estudios, incluyendo los de Eurocord el tiempo de injerto mieloide y plaquetario se asoció con el grado de disparidad en HLA, el número de células nucleadas totales (CNT) y la utilización de filgastrim después del trasplante. La coexistencia de disparidad en HLA clase I y II, así como una dosis celular alta de progenitores hematopoyéticos (CD34+) se asociaron con enfermedad injerto contra huésped severa (Grados III-IV). Se observó así mismo mayor frecuencia de recaída en pacientes HLA idénticos, destacando la importancia de la presencia de diferencias en HLA en el efecto injerto contra leucemia.

El primer estudio prospectivo, multicéntrico de trasplante de cordón umbilical reportado por Kurtzberg *et al* en 2008, en el COBLT (Cord Blood Transplantation Study) que incluyó 191 pacientes pediátricos con enfermedades hemato-oncológicas malignas. La supervivencia global fue de 57.3% a 1 año. Eapen *et al* compararon el pronóstico de 503 niños menores de 16 años con leucemia aguda que recibieron TCPHCU compatible HLA (4-6/6) con el pronóstico de 282 pacientes a quienes se realizó Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos de donadores no relacionados de médula ósea HLA compatibles (7-8/8). Se realizó comparación con el gold standard (donador compatible no relacionado de médula ósea HLA 8/8) apoyando el uso de TCPHCU compatible o parcialmente compatible en pacientes pediátricos con Leucemia Aguda que no cuenten con donador relacionado compatible.

Los receptores de unidades de cordón umbilical con 1 mismatch (disparidad) en un antígeno sumado a una dosis celular baja, tenían un injerto de características muy similares a lo observado con las unidades de cordón que tenían 2 diferencias antigénicas, mientras que las unidades con una sola diferencia antigénica que además tenían mayor dosis celular resultaban en un mejor injerto, indicando que la dosis celular compensa de forma parcial el grado de diferencias antigénicas en HLA.

Actualmente el estudio de HLA en los bancos de cordón se realiza mediante tipificación serológica de HLA A y B; y tipificación alélica de HLA DRB1. Se recomienda evitar la utilización de unidades de cordón con más de 3 ó 4 diferencias. recientemente también se describió la importancia de la búsqueda de anticuerpos anti HLA contra los antígenos de HLA presentes en la unidad de cordón umbilical como factor pronóstico de injerto. Los requerimientos celulares pueden aumentar con el número de diferencias en HLA, asimismo si el criterio de dosis no se alcanza, se debe considerar la infusión de dos cordones.

En el caso de la utilización de las unidades de cordón umbilical con compatibilidad HLA 6/6 ó 5/6, se prefieren diferencias en HLA A y B, que diferencias en DRB1. Se recomienda una dosis total de células nucleadas al momento de la congelación de $>2.5-3.0 \times 10^7/\text{kg}$, post descongelación: $>2-2.5 \times 10^5/\text{kg}$. Dosis de CD34+: durante congelación o descongelación la dosis en enfermedades remato-oncológicas malignas debe ser aproximadamente de $1.2-1.7 \times 10^5/\text{kg}$. Datos preliminares de Eurocord aun no publicados sugieren la participación de disparidad en HLA DRB1 en el efecto injerto contra leucemia, en pacientes que aun no están en remisión al momento del trasplante.

En caso de compatibilidad 4/6 se prefieren diferencias en HLA A y B que en DRB1. Para enfermedades malignas se recomienda: dosis total de células nucleadas al momento de la congelación de $>3.5 \times 10^7/\text{kg}$, post descongelación: $>3 \times 10^5/\text{kg}$. Dosis de CD34+: durante congelación o descongelación la dosis en enfermedades hemato-oncológicas malignas debe ser aproximadamente de $1.7 \times 10^5/\text{kg}$.

En adolescentes, el número relativamente bajo de progenitores presentes en cada unidad de cordón umbilical puede resultar en falla de injerto o bien en un injerto tardío, lo cual limita el uso de una sola unidad de cordón, debido a que la dosis celular se calcula por kilogramo de peso. Para tratar de mejorar la dosis celular Barker y colaboradores de la Universidad de Minnessotta fueron los pioneros en utilizar 2 unidades de cordón umbilical con buenos resultados.

En el Instituto Nacional de Pediatría se ha realizado TAPH en niños con enfermedades hemato-oncológicas malignas. Se utilizó como fuente la SCU ya que ninguno de los pacientes contaba con donador relacionado HLA compatible.

Desde el año de 2008, se han realizado 26 trasplantes de cordón umbilical en el tratamiento de enfermedades hemato-oncológicas malignas, básicamente LLA y LMA. Se desea conocer los resultados de dicha intervención.

Cuando el Instituto Nacional de Pediatría solicita una unidad de cordón umbilical nacional para un trasplante en momento de que el médico la recibe, debe recibir también una hoja con las especificaciones de la unidad de cordón umbilical tales como histocompatibilidad, dosis de células progenitoras hematopoyéticas (CD34+) en 21ml totales de sangre de cordón, dosis de células nucleadas totales (CNT) en 21ml totales. Grupo sanguíneo del cordón umbilical, serología negativa del mismo así como información de viabilidad y clonogenicidad celular (E clone). Sin embargo la información que acompaña a las unidades de cordón es cada vez más escueta.

4. JUSTIFICACIÓN

Sólo el 35% de los pacientes que requieren un Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos tienen la posibilidad de encontrar un donador idéntico en su familia, la única alternativa para ellos, es encontrar un donador no relacionado (DNR) compatible.

El TCPHCU en enfermedades hemato-oncológicas en el Instituto Nacional de Pediatría se ha realizado en niños con LLA y LMA desde 2008 hasta 2012. Se desea conocer la evolución de los pacientes ya que no se cuenta con información acerca de la supervivencia global en pacientes con leucemias agudas (linfoblásticas y mieloides) que fueron trasplantados con fuente de cordón umbilical, no se conoce la tasa de injerto y los factores que influyeron en la presencia de injerto determinado mediante quimerismo genético.

Estudios recientes realizados en los pacientes trasplantados en el INP, con diagnóstico de LAL (No incluye pacientes con LAM) muestran que utilizando la fuente celular sangre de cordón umbilical la supervivencia global es menor (40%) en comparación con aquellos pacientes en los cuales se realizó un trasplante de donador alogénico relacionado compatible (hermano) en quienes se utilizó sangre periférica en quienes la supervivencia se reportó en 60%.

El quimerismo presente al momento del injerto mieloides se observó en 54.8 % de los pacientes. Fue negativo (falla primaria de injerto) en el 72.2% de los pacientes

trasplantados con sangre de cordón umbilical y en 8.3% de los pacientes en quienes se usó sangre periférica. Lo cual resultó estadísticamente significativo.(p: 0.002).

Se desea conocer que factores influyen en la falla de injerto en pacientes trasplantados con sangre de cordón umbilical.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En el Instituto Nacional de Pediatría se han realizado 26 TCPHCU en niños con enfermedades hemato-oncológicas desde 2008 (LLA y LAM). Los resultados de dicha intervención no se conocen por lo cual se revisará: Supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad (leucemia aguda: incluye LLA y LAM), injerto vs no injerto, así como la relación que existe entre dosis celular e histocompatibilidad de los cordones con el injerto determinado mediante quimerismo genético.

Se desea conocer los factores que influyen en la presencia ó falla de injerto en pacientes a quienes se realizó TCPH CU. (participación de dosis celular de CD34 y células nucleadas totales, Histocompatibilidad). En la hoja de especificaciones de cordón umbilical no se especifica la viabilidad celular ni cultivos clonogénicos (que mide el porcentaje de células de la unidad de cordón umbilical que están vivas y su capacidad proliferativa respectivamente), éstos dos datos son fundamentales para que el clínico decida cual es la mejor opción de cordón umbilical para el paciente.

Mostrando los resultados de éste estudio a los proveedores nacionales de sangre de cordón umbilical, el Servicio de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos se justificará el hecho de que se incluya la información completa acerca de cada unidad de cordón umbilical.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cual fue la evolución de los pacientes con leucemias agudas que recibieron un trasplante de progenitores hematopoyéticos de SCU en el Instituto Nacional de Pediatría de 2008 a 2012? ¿Qué factores influyeron en la supervivencia y el injerto?

6. OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo general es conocer la evolución en los niños con diagnóstico de LAL ó LAM a quienes se les realizó un trasplante de sangre de cordón umbilical en el Instituto Nacional de Pediatría de 2008 a 2012, en términos de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad.

De los pacientes pediátricos con enfermedades hemato-oncológicas malignas (leucemias agudas) en los cuales se realizó Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical , en el Instituto Nacional de Pediatría de 2008—2012 se desea:

Objetivos específicos

1. Identificar los factores que influyen en la supervivencia: se estudiará tipo de leucemia, número de remisión, número de cordones umbilicales utilizados, dosis celular de CD34+.
2. Conocer los factores que influyen positivamente en el injerto: se estudiará tipo de leucemia, número de cordones umbilicales utilizados, dosis celular de CD34+.
3. Conocer la frecuencia de injerto (injerto vs no injerto)

4. Conocer la frecuencia de injerto (Injerto vs no injerto)
5. Comparar la supervivencia utilizando 1 ó 2 cordones umbilicales
6. Conocer si el injerto se relaciona con el número de unidades infundidas
7. Conocer si influye la dosis celular y la histocompatibilidad de la SCU en el injerto.

8. MATERIALES Y MÉTODO:

a) Diseño del estudio: Descriptivo, longitudinal, retrolectivo, retrospectivo y comparativo.

b) Universo de estudio: Se analizará una serie de casos de pacientes con las siguientes características:

Población objetivo: Expedientes de pacientes de 0-18 años de edad, con diagnóstico de LLA o LMA, a quienes se haya realizado TCPH CU en el Instituto Nacional de Pediatría de 2008-2012,

Población elegible: Expedientes de pacientes pediátricos con LLA o LMA a quienes se haya realizado TCPHCU en el INP entre 2008 y 2012; que cumplan todos los criterios de selección.

c) *Criterios de Selección:*

Criterios de Inclusión:

1. Edad entre 0 y 17 años al momento del TCPHCU
2. Cualquier sexo
3. Diagnóstico de LLA o LMA, a quienes se haya realizado TCPHCU en el INP en los años de 2008 a 2012.
4. Con la información necesaria para el análisis en el expediente

No hay criterios de exclusión ni de eliminación

d) **Variables:**

-Edad: Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo. Tipo de variable: Cuantitativa continua. Unidad de medición: Meses.

-Sexo: Genero biológico del paciente. Tipo de variable: Cualitativa Nominal. Unidad de medición: Masculino / Femenino.

-Diagnóstico: Tipo de enfermedad confirmada por estudios paraclínicos. Tipo de variable: Cualitativa Nominal. Unidad de medición: LLA o LMA

-Dosis Celular de CD34: Conteo de células CD34 + en las unidades de cordón umbilical. Tipo de variable: Cuantitativa continua. Unidad de medición: Número de células $\times 10^5$ /kg de peso.

-Dosis celular de Células Nucleadas Totales (CNT): Conteo de células nucleadas totales de cordón umbilical. Tipo de variable: Cuantitativa continua. Unidad de medición: Número de células nucleadas totales $\times 10^8$ /kg de peso.

-HLA: Human Leucocyte Antigen (Antígenos Leucocitarios Humanos) determinados mediante comparación de los HLA del paciente con los HLA de la unidad de cordón umbilical del donador. Tipo de Variable: Cuantitativa continua.

Unidad de medición: 4/6 , 5/6 , 6/6. (Dependiendo de los alelos correspondientes de compatibilidad).

-Injerto Mieloide: Primer día en que presenta por tres días consecutivos cuenta de neutrófilos en biometría hemática mayor de 500 células / uL. Tipo de Variable: Cuantitativa continua. Unidad de medición: Días.

-Injerto: Presencia de quimerismo genético de donador en muestra sanguínea del receptor. Tipo de variable: cualitativa nominal: Sí / No.

-Recaída de Leucemia: Se refiere a la aparición de características clínicas de la enfermedad del diagnóstico. Pérdida del quimerismo por actividad tumoral. Tipo de variable: Cualitativa Nominal. Unidad de medición: Sí / No.

-Falla de Injerto Primaria: quimerismo negativo posterior al trasplante, sin evidencia de quimerismo positivo previo. Tipo de variable: Cualitativa nominal. Unidad de medición: Si/ No.

-Falla de injerto Secundaria: Pérdida de quimerismo en cualquier momento posterior a trasplante. Con evidencia previa de quimerismo positivo previo. Tipo de variable: Cualitativa Nominal. Unidad de medición: Si /No.

-Muerte: Cese de la vida de una persona. Tipo de variable: Cuantitativa Nominal. Unidad de medición: Si/No.

-Causa de la muerte: Causa directa del cese de la vida del paciente. Tipo de variable: Cuantitativa Nominal. Unidad de medición: Diagnóstico de Certificado de Defunción

-Supervivencia libre de Enfermedad: Probabilidad de supervivencia en el periodo transcurrido en meses desde el trasplante hasta la recaída de leucemia ó la muerte del paciente. Tipo de variable: Cuantitativa continua . Unidad de medición: meses

-Supervivencia Global: Probabilidad de supervivencia en el periodo en el periodo transcurrido en meses desde el trasplante hasta la última consulta/ muerte. Tipo de variable: Cuantitativa continua. Unidad de medición: Meses.

-Estado Clínico actual: Estado del paciente al momento de la evaluación . Tipo de variable: Cualitativa nominal.

Unidad de medición: Vivo con enfermedad (leucemia) /Vivo sin enfermedad (leucemia)
Muerto con enfermedad(leucemia)/Muerto sin enfermedad (leucemia)

e) Material y método:

Se revisaron los expedientes de los pacientes que cumplieron con los criterios antes mencionados. Usando la siguiente hoja de recolección de datos . (Ver anexo de excel)

Se realizó estudio de histocompatibilidad HLA en los pacientes mediante técnica de PCR. Los cordones umbilicales fueron seleccionados cuando presentaban compatibilidad 4-6/6 HLA. En los casos en que la celularidad de CD34+ de un cordón resultó menor de $3 \times 10^5/\text{kg}$ se utilizaron 2 unidades de cordón umbilical. Todos los pacientes recibieron acondicionamiento mieloablativo. Los pacientes con diagnóstico de leucemia Aguda Linfoblástica recibieron acondicionamiento con Irradiación Corporal total (600cGy) en 3

fracciones (1 fracción cada 24 horas por 3 días) posteriormente ciclofosfamida a una dosis de 60mg/kg/día por 2 días , Globulina Antitimocito (1.5mg/kg/día por 3 días). Los pacientes con leucemia aguda no linfoblástica recibieron busulfán (dosis ponderal intravenosa), ciclofosfamida 120mg/kg dosis total y Globulina antitimocito (1.5mg/kg/día x 3 días) .

Como esquema de profilaxis de Enfermedad Injerto contra huésped recibieron ciclosporina A a 6mg/kg/día que inició en el día -1 y se suspendió después del día +180 y metotrexate a 15mg/m² dosis en los días +1,+3,+6 y +11 postrasplante. Se administró filgastrim diariamente a partir del día + 5 y hasta la tercera de 3 cuentas consecutivas de neutrófilos totales superiores a 500 cel/uL en citometría hemática.

-Quimerismo: Determinación en sangre periférica mediante STR (short tandem repeats) PCR fluorescente y análisis en secuenciador automático.

Para la recolección de la información se propone la siguiente base de datos (Ver Anexo)

10. ANALISIS ESTADISTICO:

Se realizó estadística descriptiva con porcentajes, para las variables numéricas con distribución no normal, se calcularon modas y medianas, rangos y desviación estándar, para evaluar el impacto de las variables independientes sobre la variable dependiente, se realizó análisis bivariado para las variables cualitativas con Chi cuadrada y para las numéricas con T de Student.

Se realizaron curvas de supervivencia global y libre de evento con la estimación de Kaplan Meier de supervivencia Global y de supervivencia libre de enfermedad utilizando el SPSS 15. (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Las tablas de supervivencia se ajustaron con prueba de Log Rank de acuerdo a las variables de impacto.

11.RESULTADOS:

Características de los pacientes :

Número de pacientes :	25
Edad Media al momento del TCPH:	132.84 meses mínimo: 19 máximo: 259 DS: 66.852
Género: Femenino Masculino	9 16
Diagnóstico: LLA LAM	19 6
Número de remisión: RC 1 RC 2 RC 3 RC 4 LLA secundaria	8 11 3 1 1
Media de seguimiento en días post-trasplante	Media 59 Mínimo: 0 Máximo: 59 DS: 19.273
Fuente celular utilizada para el TCPH: -Sangre de Cordón Umbilical (1) -Sangre de Cordón Umbilical (2)	11 14
Dosis media de CD34+	2.2X 10 ⁵ /kg
Dosis de CNT	(2.3-35) 8.2X10 ⁷ / kg

Se estudiaron 25 pacientes , 9 del género femenino y 16 del género masculino, 19 con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda y 6 con diagnóstico de leucemia mieloblástica aguda. Se trasplantaron 8 pacientes en primera remisión, 1 con leucemia secundaria a retinoblastoma, 11 en segunda remisión, 3 en tercera remisión y uno en cuarta remisión. Los pacientes estudiados tenían edades entre 0-18 años, en algunos de ellos se utilizaron 2 cordones umbilicales para lograr una dosis celular mínima de 2×10^5 kg.

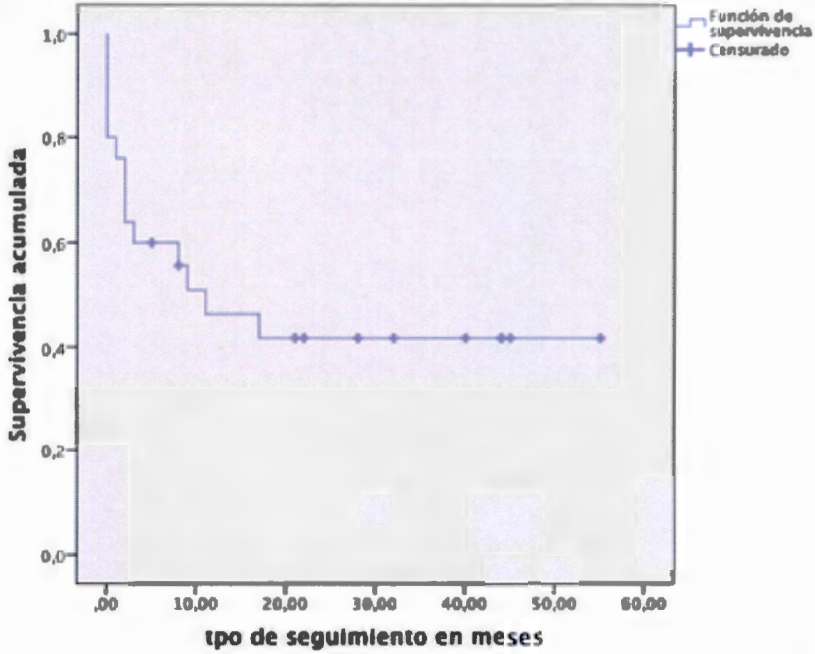
Tipo de leucemia			
		Frecuencia	Porcentaje
	Leucemia linfoblástica aguda	19	76,0
	Leucemia mieloide aguda	6	24,0
	Total	25	100,0

Número de cordones umbilicales			
		Frecuencia	Porcentaje
	1	11	44,0
	2	14	56,0
	Total	25	100,0

En relación a la presencia de enfermedad injerto contra huésped 22 no la hicieron. 6 presentaron EICH crónico grado 1, 4 grado 2 y 1 grado 3.

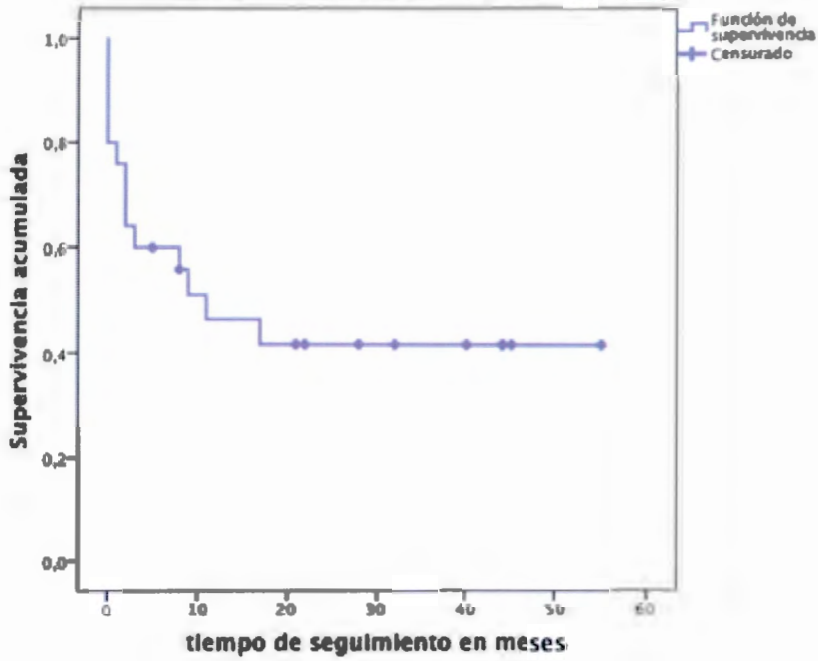
CURVAS DE SUPERVIVENCIA:

Supervivencia global de niños mexicanos con leucemias agudas sometidos a TCPH de cordón umbilical



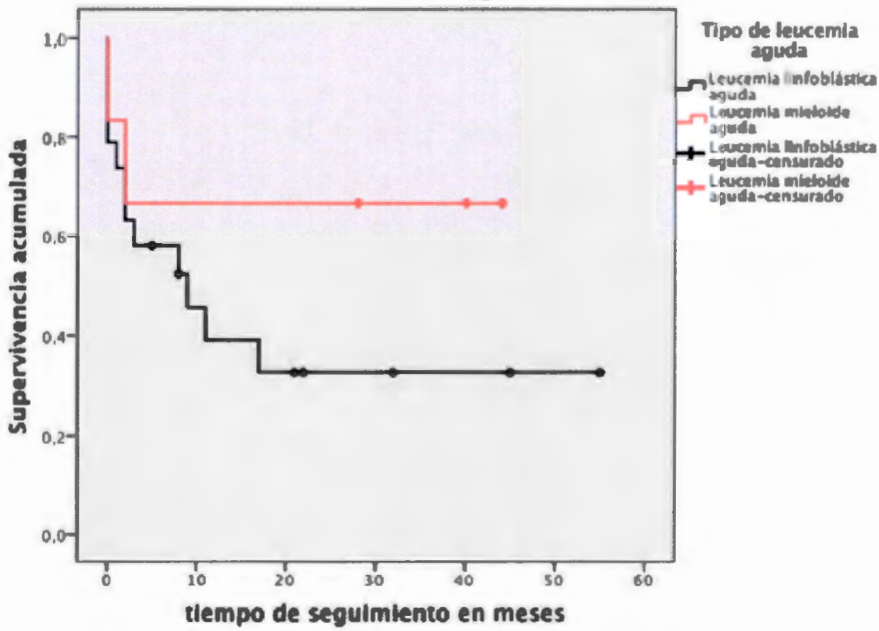
La supervivencia global en los pacientes con leucemia aguda (linfoblástica y no linfoblástica) trasplantados con progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical se reportó en 43%.

Supervivencia libre de evento en niños mexicanos con leucemias agudas sometidos a TCPH con cordón umbilical



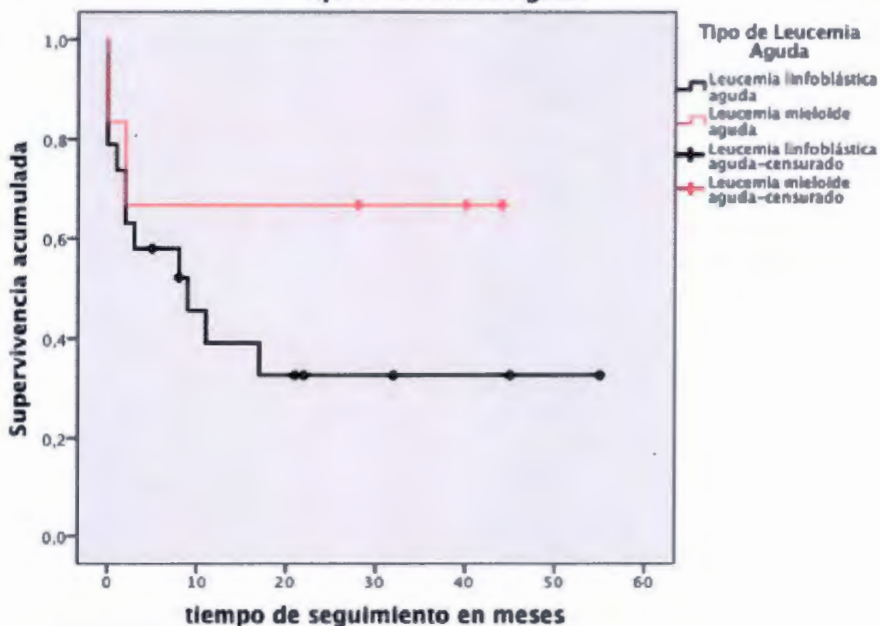
La supervivencia libre de evento (recaída de leucemia) en pacientes con LAL y LAM se reportó en un 41%, las recaídas de la enfermedad (a médula ósea y sistema nervioso central) se presentaron con mayor frecuencia en los primeros 16 meses posteriores al trasplante.

Supervivencia global de niños mexicanos con enfermedades hematológicas sometidos a TCPH con cordón umbilical de acuerdo al tipo de leucemia aguda



La supervivencia global de los pacientes con leucemia aguda mieloblástica se reportó en 66%, mientras que la supervivencia global en pacientes con leucemia aguda linfoblástica es poco mayor que 30%, presentando una caída constante en los primeros 11 meses.

Supervivencia libre de evento de niños mexicanos con enfermedades hemato-oncológicas sometidos a TCPH de cordón umbilical de acuerdo al tipo de leucemia aguda



La supervivencia libre de evento (recaída de leucemia) se reportó en 64% en los pacientes con leucemia aguda mieloblástica, mientras que fue notablemente menor (33%) en los pacientes con leucemia aguda linfoblástica.

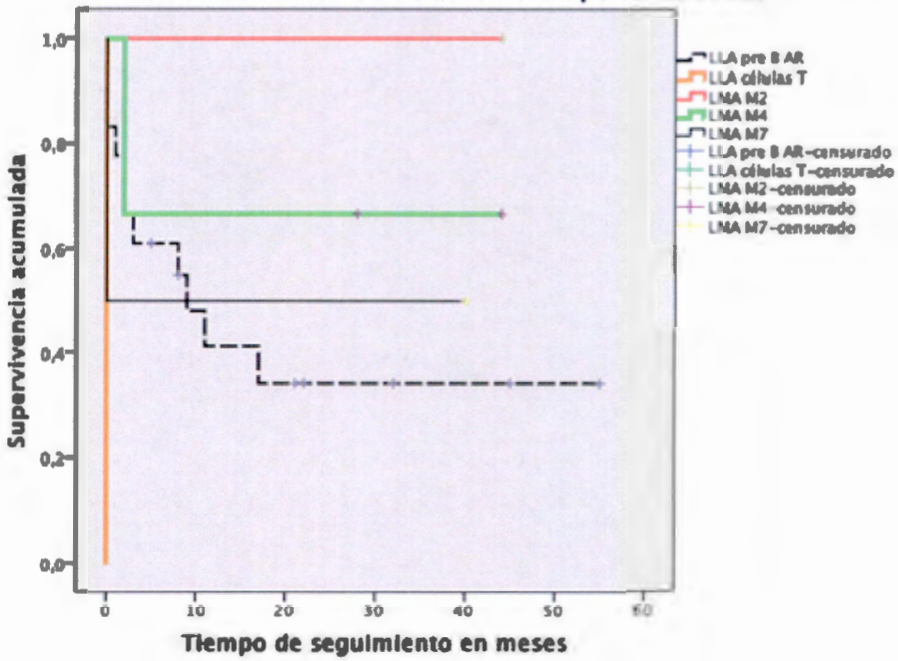
En 6 de los pacientes se evidenció recaída postrasplante, en cuanto a los diagnósticos de base 1 de los pacientes tenía diagnóstico de leucemia aguda mieloblástica (M4), y 5 de los pacientes tenían diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica pre B con criterio de trasplante.

El grupo con mayor frecuencia de recaída postrasplante fue el de leucemia aguda linfoblástica (83% de los casos de recaída postrasplante).

Las recaídas de los pacientes ocurrieron en los primeros 11 meses posteriores al trasplante.

De los 6 pacientes que presentaron recaída postrasplante 66% tenía falla primaria al injerto, es decir no tenían quimerismo positivo, lo cual puede explicarse por ausencia del efecto injerto contra leucemia en los pacientes que recayeron.

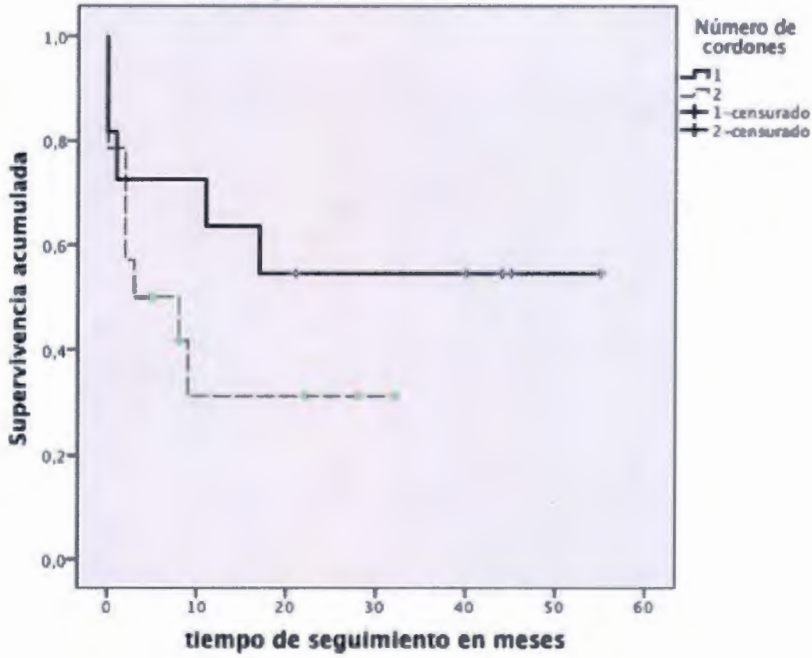
Supervivencia global de niños con leucemias agudas sometidas a TCPH con cordón umbilical de acuerdo al tipo de leucemia



p: 0.23

La figura superior demuestra la supervivencia global en pacientes con leucemia aguda de acuerdo al tipo de leucemia (linfoblástica y mieloblástica). Se observa en la distribución de las leucemias mieloblásticas que el grupo de las M2 tiene mejor supervivencia que las M4 y éstas que las M7, el grupo de menor supervivencia fue el de LAL.

Supervivencia global de niños mexicanos con enfermedades hemato-oncológicas con TCPH de cordón umbilical



p: 0.23

En algunos casos que con una sola unidad de sangre de cordón , no se alcanzó una dosis celular adecuada para el paciente, se utilizaron 2 unidades de sangre de cordón umbilical. Se muestra en la gráfica que la supervivencia global en los pacientes independientemente del tipo de leucemia aguda, en los que se utilizó 1 unidad de cordón umbilical versus 2 unidades, independientemente de la dosis celular por kilogramo de peso del receptor , los resultados arrojaron una mayor supervivencia en aquellos pacientes que se trasplantaron con 1 unidad de cordón umbilical (supervivencia global de 58%) en comparación con aquellos en los que se utilizaron 2 unidades de cordón umbilical (la cual se reportó en 30%).

Número de cordones versus quimerismo				
Recuento				
		cordones		Total
		1	2	
Quimerismo	si	5	5	10
	no	6	9	15
Total		11	14	25

p: 0.62

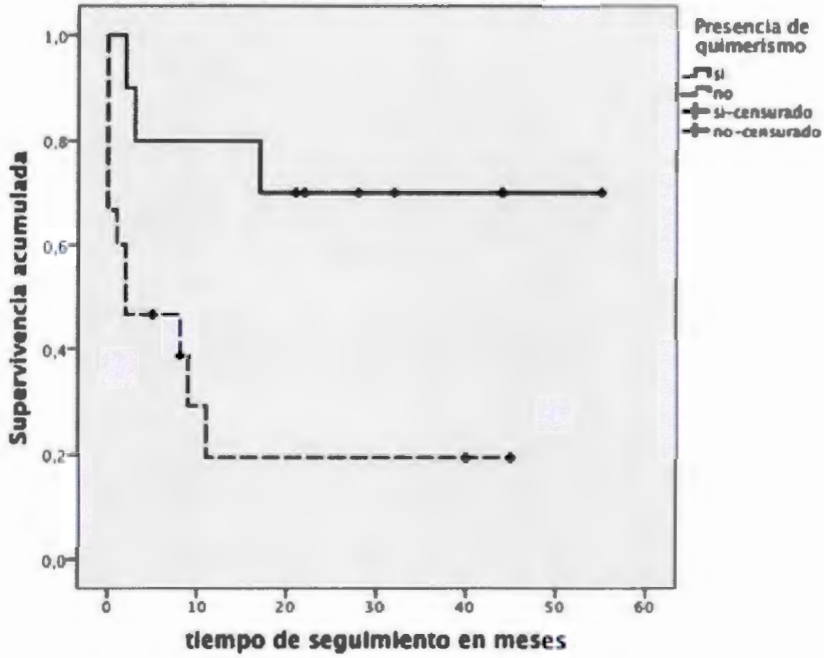
De particular interés resultó que del grupo en el que se utilizaron 2 cordones , sólo el 35.7 % de los pacientes tuvo evidencia de injerto positivo mediante la determinación de quimerismo genético y 64.3% presentó falla primaria al injerto . En comparación con el grupo en el que se utilizó una única unidad de cordón umbilical, en el cual 45.4% tenía evidencia de injerto mediante quimerismo genético positivo y 56.5% presentó falla primaria de injerto.

Tabla de contingencia quimerismo * estadoactual				
Recuento				
		Estado actual		Total
		vivo	muerto	
quimerismo	si	7	3	10
	no	4	11	15
Total		11	14	25

p: 0.032

De los 10 pacientes que injertaron, a la última fecha de seguimiento el 70% se mantenía vivo, mientras que de los 15 pacientes que no injertaron al último seguimiento el 73% había fallecido, ya sea por recaída de leucemia aguda o bien por complicaciones hemorrágicas ó infecciosas. Lo anterior es evidencia de la importancia del efecto injerto contra leucemia de las células trasplantadas inmunológicamente activas.

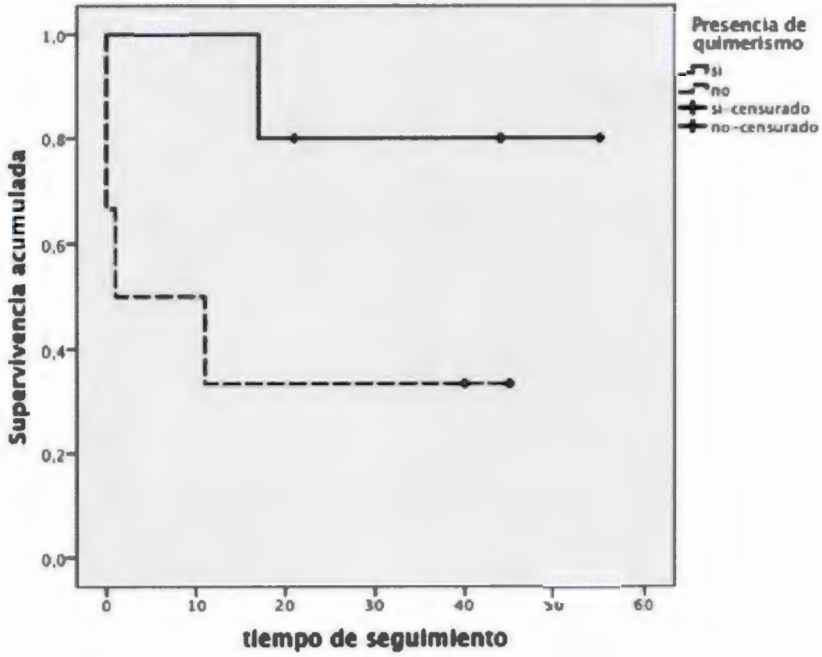
Supervivencia global de niños con leucemias agudas y TCPH de cordón de acuerdo a la presencia de quimerismo



p: 0.01

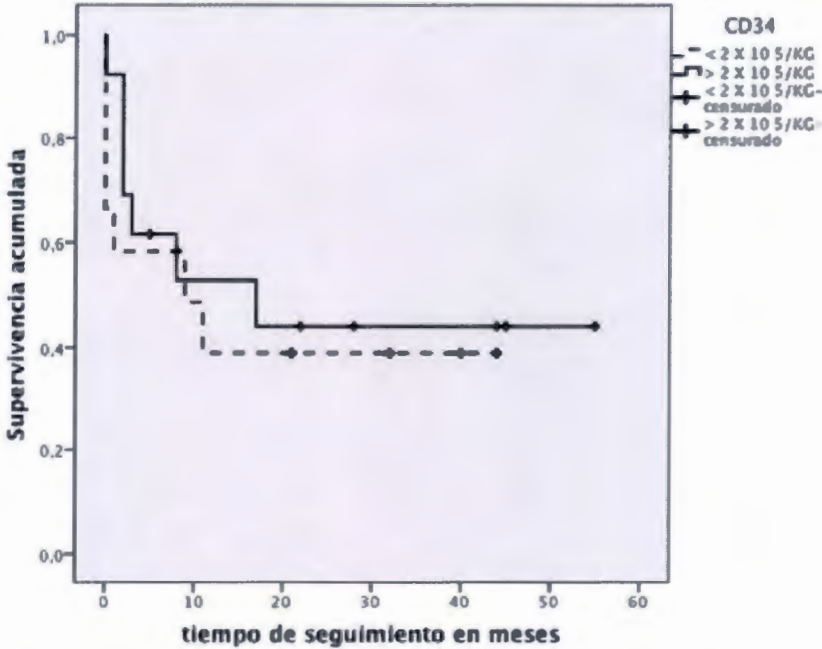
De los pacientes con leucemia aguda que injertaron la supervivencia global se calculó en 70%, mientras que en aquellos que no injertaron la supervivencia cayó hasta 20%. Lo anterior resultó estadísticamente significativo.

Supervivencia global de niños con leucemias agudas y TCPH con un solo cordón umbilical y la presencia de quimerismo



p:0.09

Supervivencia global de niños con leucemias agudas y TCPH de cordón umbilical de acuerdo a la dosis celular total de CD34



p:0.67

Se analizó como punto de corte una celularidad de CD34+ $2.0 \times 10^5 / \text{kg}$ para una compatibilidad de 4/6-6/6, se compararon ambos grupos: mayor de 2 y menor de $2 \times 10^5 / \text{kg}$, en el grupo en el que se utilizó una dosis celular menor a $2 \times 10^5 / \text{kg}$ se reportó una supervivencia de 38%, mientras que en aquellos que se utilizó 1 dosis total mayor a $2 \times 10^5 / \text{kg}$, la supervivencia se reportó en 42%. Lo anterior no resultó estadísticamente significativo, es importante mencionar que la dosis de CD34+ se estableció mediante la dosis total de CD34+ (resultado de la celularidad total de 1 cordón ó bien cuando se utilizaron 2 cordones, la suma de la celularidad total de ambos cordones dividida entre los kilogramos de peso del receptor).

Asociación entre quimerismo y dosis total de CD34				
Recuento				
		CD34+		Total
		<math>< 2 \times 10^5 / \text{KG}</math>	>math>> 2 \times 10^5 / \text{KG}</math>	
quimerismo	si	3	7	10
	no	9	6	15
Total		12	13	25

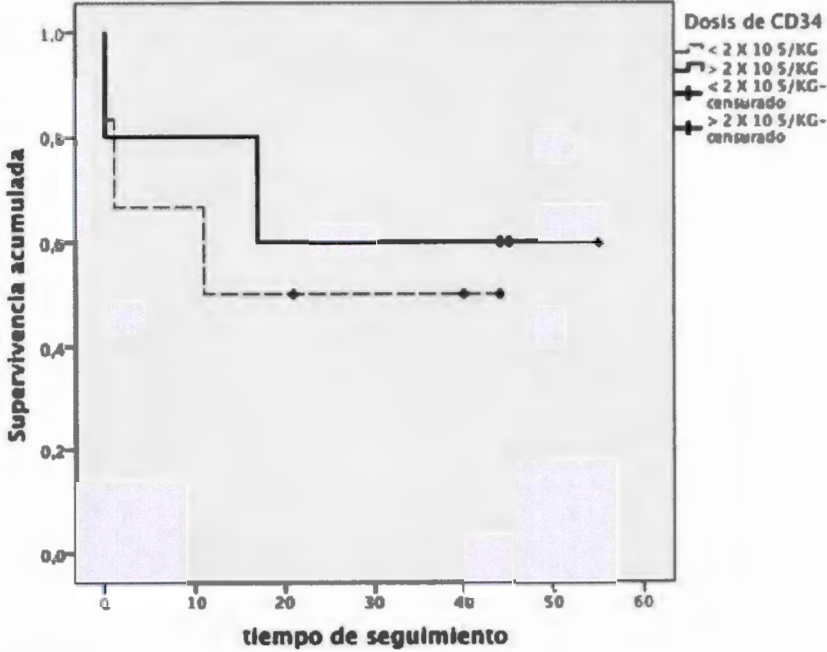
P=0.1

Del total de los pacientes que injertaron, en el 70% de los casos que injertaron se utilizó una dosis de CD34+ mayor a $2 \times 10^5 / \text{kg}$, y en el 30% de los pacientes que injertaron se utilizó una dosis menor a $2 \times 10^5 / \text{kg}$.

Del total de los pacientes en quienes se utilizó una dosis celular mayor a $2 \times 10^5/\text{kg}$, sólo el 53.85% presentó datos de injerto.

Del total de los pacientes en quienes se utilizó una dosis celular menor a $2 \times 10^5/\text{kg}$, sólo el 25% tuvo falla de injerto.

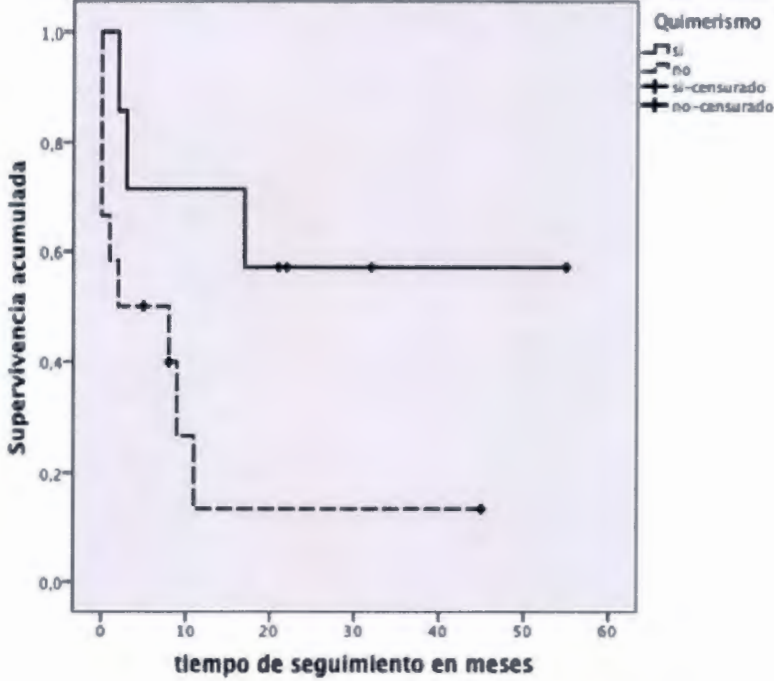
Supervivencia global de niños con leucemias agudas y T-CPH con un solo cordón de acuerdo a la dosis celular CD34



p: 0.69

PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA QUE RECIBIERON TRASPLANTE DE CORDON UMBILICAL:

Supervivencia global de niños con LAL y TCPH con cordón umbilical



p: 0.05

La supervivencia global en niños con LLA a quienes se realizó un TCPHCU que tenían quimerismo positivo se reportó en 58%, en contraste con los pacientes con quimerismo negativo en los cuales se reportó menor al 20%. Lo anterior resultó estadísticamente significativo evidenciando la importancia del efecto injerto contra leucemia. Del total de los pacientes con LLA que recibieron TCPHCU el 42.1% presentó injerto determinado mediante quimerismo positivo, mientras que el 57.8% tuvieron quimerismo negativo (falta de injerto).

Número de cordones utilizados en el TCPH de niños con LAL			
		Frecuencia	Porcentaje
	1	7	36,8
	2	12	63,2
	Total	19	100,0

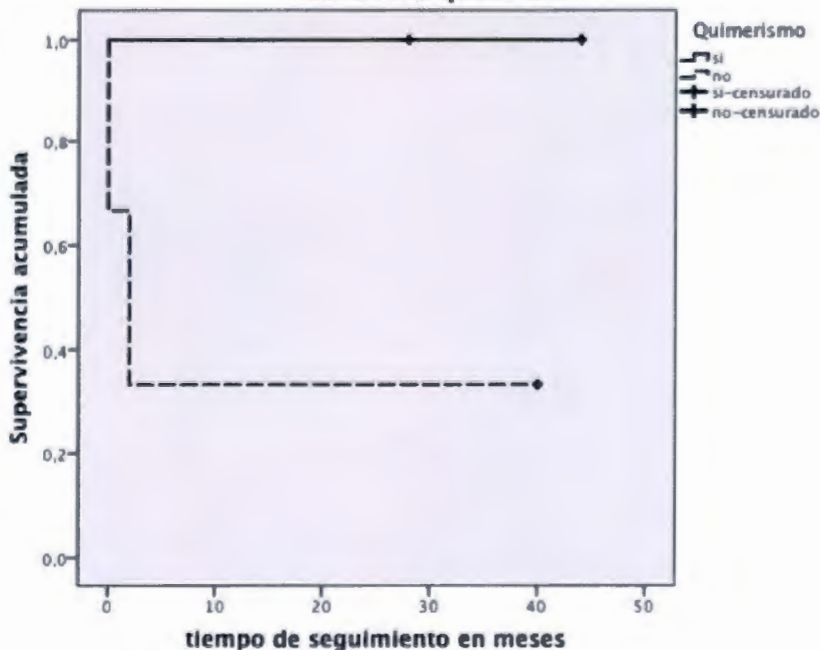
Del total de los pacientes con LLA, en 63.2% de los pacientes se utilizó una unidad de cordón umbilical y en 36.8% se utilizó solamente una unidad.

Estado actual de los niños con LLA			
		Frecuencia	Porcentaje
Válidos	Muerto con enfermedad	5	26,3
	Muerto sin enfermedad	7	36,8
	Vivo sin enfermedad	7	36,8
	Total	19	100,0

De los 19 pacientes con LLA el 36.8% al momento de la última consulta estaba vivo sin enfermedad, el 63.1% muerto, el 26.3% falleció por complicaciones relacionadas a recaída de la enfermedad y el 36.5% por complicaciones infecciosas y/ ó hemorrágicas.

PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE QUE RECIBIERON TRASPLANTE DE CORDON UMBILICAL

Supervivencia global de niños con LAM y TCPH de cordón umbilical de acuerdo al quimerismo



P:0.16

En los niños con LAM la supervivencia global en pacientes con quimerismo positivo se reportó en 100%, y de los que tuvieron quimerismo negativo la supervivencia global se reportó en 35%.

Estado actual de los niños con LAM			
		Frecuencia	Porcentaje
	Muerto con enfermedad	1	16,7
	Muerto sin enfermedad	1	16,7
	Vivo sin enfermedad	4	66,7
	Total	6	100,0

Del total de pacientes con LAM al momento de la última evaluación el 66.75 % se encontraba vivo sin enfermedad, el 16.7% muerto sin leucemia y el 16.7% muerto con leucemia.

Número de cordones utilizados en el TCPH de niños con LAM			
		Frecuencia	Porcentaje
	1	4	66,7
	2	2	33,3
	Total	6	100,0

En la mayor parte de los casos se utilizó una unidad de cordón umbilical.

p: 0.21

Tabla de contingencia quimerismo * CD342 * TipoLA					
Recuento					
Tipo de Leucemia Aguda			CD34+		Total
			< 2 X 10 ⁵ / KG	> 2 X 10 ⁵ / KG	
Leucemia linfoblástica aguda	quimerismo	si	2	5	7
		no	7	5	12
	Total		9	10	19
Leucemia mieloide aguda	quimerismo	si	1	2	3
		no	2	1	3
	Total		3	3	6
Total	quimerismo	si	3	7	10
		no	9	6	15
	Total		12	13	25

En la tabla superior se muestra la correlación entre el tipo de leucemia aguda, la presencia de injerto y la dosis celular de CD34+, muestra que 10 pacientes tuvieron quimerismo positivo y 15 tuvieron quimerismo negativo, el 70% de los pacientes que injertó recibió una dosis mayor a 2x10⁵/kg de CD34+, mientras que 60% de los pacientes que no injertaron recibieron una dosis menor a 2x10⁵/kg.

Tipo de leucemia y estado actual:

Asociación entre tipo de leucemia aguda y estado actual							
Recuento							
		Variedad de leucemia aguda					Total
		LLA pre B AR	LLA células T	LMA M2	LMA M4	LMA M7	
Estado actual	Muerto con enfermedad	5	0	0	1	0	6
	Muerto sin enfermedad	6	1	0	0	1	8
	Vivo sin enfermedad	7	0	1	2	1	11
Total		18	1	1	3	2	25

p: 0.67

El grupo más grande analizado corresponde a pacientes con diagnóstico de LAL con 19 casos, de los cuales 12 fallecieron, los 6 pacientes restantes tuvieron diagnóstico de leucemia mieloblástica aguda y 2 de ellos fallecieron.

Asociación entre causa de muerte y tipo de leucemia							
Recuento							
		Variedad de leucemia					Total
		LLA pre B AR	LLA células T	LMA M2	LMA M4	LMA M7	
Causa de muerte	Hemorragia Intracraneana/ Sepsis por e.coli	1	0	0	0	0	1
	Infección	4	0	0	0	0	4
	Infección	1	1	0	0	1	3
	No aplica	7	0	1	2	1	11
	Recaída	3	0	0	1	0	4
	Recaída	1	0	0	0	0	1
	Recaída/ Infección	1	0	0	0	0	1
Total		18	1	1	3	2	25

p: 0.9

Las causas de muerte por tipo de leucemia fueron en los pacientes con LLA fueron 8 por complicaciones infecciosas y 5 por complicaciones relacionadas con recaída, y de los pacientes con LAM 1 falleció a causa de un proceso infeccioso y 1 con recaída.

-8 complicaciones infecciosas,
-1 recaída y complicación infecciosa.

Causas de muerte :

Causa de muerte			
		Frecuencia	Porcentaje
	Hemorragia Intracraneana/Sepsis por e.coli	1	4,0
	Infección	7	28,0
	No aplica	11	44,0
	Recaída	5	20,0
	Recaída/Infección	1	4,0
Total		25	100,0

La mayor parte de las causas de muerte se asocia a complicaciones infecciosas, la segunda causa de muerte fueron complicaciones asociadas a recaída de la enfermedad, cabe mencionar que de 14 pacientes fallecidos 11 (75%) no tenían quimerismo (es decir tenían falla primaria de injerto) y 9 fallecieron por alguna complicación infecciosa.

Asociación entre causa de muerte y número de cordones utilizados en el TCPH				
Recuento				
		cordones		Total
		1	2	
Causa de muerte	Hemorragia Intracraneana/Sepsis por e.coli	1	0	1
	Infeccion	0	4	4
	Infección	2	1	3
	No aplica	6	5	11
	Recaida	1	3	4
	Recaída	1	0	1
	Recaída/Infección	0	1	1
Total		11	14	25

p: 0.22

El grupo con mayor mortalidad fué el grupo en el que se utilizaron 2 cordones umbilicales, el 45.4% de los pacientes en los cuales se utilizó 1 cordón umbilical falleció, mientras que el 64.2% de los pacientes en los que se utilizaron 2 cordones umbilicales falleció, del total de fallecimientos el 73% no tenía datos de injerto, la primera causa de mortalidad fué infección y la segunda causa de mortalidad postrasplante fué la presencia de recaída, con ó sin infección.

DISCUSIÓN:

Los resultados que se muestran son novedosos en el sentido de que el Programa de TCPH en el Instituto Nacional de Pediatría es un programa joven. Incluimos a todas las leucemias agudas siendo difícil de comparar la evolución final de las mismas dado que las LAL sabemos son de mejor pronóstico, sin embargo, las que se incluyeron en este estudio fueron las recaídas y muchas veces no en segunda remisión si no en tercera. Esta situación parece influir en el desenlace ya que las LAM tienen mejor evolución que los con LAL. Esta situación probablemente se deba a la poca reserva orgánica que tienen los niños con LAL que ya tienen un diagnóstico mas antiguo con tratamientos de inducción mas prolongados.

Existe evidentemente un sesgo de selección, sin embargo, evaluamos el mismo procedimiento que fue el TCP con cordón umbilical. Con esto observamos que el determinante principal para la supervivencia independientemente del diagnóstico de linaje de la leucemia es el quimerismo. Esto resulta muy interesante debido a que dentro de los criterios de selección de los candidatos a trasplante muchas veces es determinante el diagnóstico de ingreso y lo que observamos es que tal vez lo más importante sea la compatibilidad. El número de cordones no resulta estadísticamente significativo lo que probablemente pueda estar en relación al tamaño de la muestra, sin embargo cuando se analizó la supervivencia de acuerdo a la dosis celular tampoco existe diferencias significativas.

Las causas de muerte están relacionadas a infección lo que es muy similar a lo descrito en la literatura internacional.

En la serie de pacientes estudiados, la supervivencia global para los pacientes con leucemia aguda linfoblástica y mieloblástica se reportó en 43%, el grupo de pacientes con leucemia aguda linfoblástica tuvo una supervivencia global menor que el de los pacientes con leucemia aguda mieloblástica, presentando el primer grupo mayor tasa de falla de injerto y también mayor frecuencia de recaída, lo anterior se traduce en que la falta de actividad injerto contra leucemia condicionó recaída de la enfermedad.

La falla de injerto se asoció a mortalidad en los pacientes de nuestra serie, se estudiaron factores como el número de cordones infundidos y la dosis celular de CD34+ y CNT de los cordones. Los resultados sugieren que el uso de una unidad de cordón umbilical se tradujo en mayor supervivencia que la utilización de 2 unidades. La dosis celular mayor a $2 \times 10^5/\text{kg}$ se asoció a mayor supervivencia global y libre de enfermedad.

La presencia de injerto se correlacionó positivamente con la supervivencia global y libre de enfermedad lo cual resultó estadísticamente significativo.

El 66% de los pacientes no injertó y falleció por complicaciones relacionadas con falla de injerto (complicaciones infecciosas y/o recaída)

Se requiere mayor estudio de las unidades de cordón umbilical ya que en la literatura internacional la supervivencia es mejor y la falla de injerto menor,

CONCLUSIONES

El TPH es una modalidad terapéutica efectiva en el tratamiento de neoplasias hematológicas malignas. El tipo de leucemia es, como está descrito un factor determinante. El número de cordones y la celularidad no resultaron estadísticamente significativos para la presencia de injerto a diferencia de lo que se reporta en la literatura internacional aunque pudiera ser por el tamaño de la muestra. Es necesario el estudio de otros factores como viabilidad celular y clonogenicidad de los progenitores hematopoyéticos de las unidades de SCU para evaluarlos previo a la realización de un trasplante con la finalidad de elegir las mejores unidades de cordón umbilical que favorezcan la presencia de injerto y con ello la supervivencia.

CONSIDERACIONES ÉTICAS : Estudio retrospectivo, sólo se revisaron expedientes . Se garantiza confidencialidad en la información obtenida y la identidad del paciente.

11. BIBLIOGRAFIA:

1. Olaya V. Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas en Pediatría. Principios básicos. Editores de textos Mexicanos. Primera Edición pp. 175-300. 2012.
2. Oran B, et al. Umbilical cord transplantation: a maturing technology. ASH Education Program Book 2012.
3. Carreras E, Apperley J et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. 6th Edition. 2012.
4. Locatelli F, Rocha V, Chastang C, Arcese W, Michel G, Abecasis M, et al. Factors associated with outcome after cord blood transplantation in children with acute leukemia. Eurocord-Cord Blood Transplant Group. Blood 1999 ; 93 : 3662-71.
5. Hows JM, Passweg JR, Tichelli A, Locasciulli A, Szydlo R, Bacigalupo A, et al. Comparison of long-term outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from matched sibling and unrelated donors. Bone Marrow Transplant 2006;38:799-805.
6. Yi E, Lee S. Hematopoietic stem cell transplantation in children with acute leukemia: similar outcomes in recipients of umbilical cord blood versus marrow or peripheral blood stem cells from related or unrelated donors. Korean J Pediatr. 2012 Mar;55(3):93-9.
7. Moore J, Nivison-Smith I, Goh K, Ma D, Bradstock K, Szer J, et al. Equivalent survival for sibling and unrelated donor allogeneic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. Biol Blood Marrow Transplant 2007;13:601-7.
8. Yakoub-Aghal, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, et al. Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings versus human leukocyte antigen-allelic-matched unrelated donors (10/10) in patients with standard-risk hematologic malignancy: a prospective study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. J Clin Oncol 2006;24:5695-702.
9. Eapen M, Rubinstein P, Zhang M J, Stevens C, Kurtzberg J, Scaradavou A, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. Lancet 2007;369:1947-54.

10. Rocha V, Cornish J, Sievers E L, Filipovich A, Locatelli F, Peters C, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 2001;97:2962- 71.
11. Horwitz M E , Sullivan K M. Chronic graft-versus-host disease. *Blood Rev* 2006;20:15-27.
12. Yoo K H, Lee S H , Sung K W , Koo H H, Chung N G, Cho B, et al. Current status of pediatric umbilical cord blood transplantation in Korea: a multi- center retrospective analysis of 236 cases. *Am J Hematol* 2011;86:12-7.
13. Ching-Hon Pui, Mary V. Relling, et al. Mechanisms of disease: Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2004;350:1535-48.
14. Schrauder A, A von Stackelberg ,et al. Allogeneic hematopoietic SCT in children with ALL: current concepts of ongoing prospective SCT trials. *Bone Marrow Transplantation* (2008) 41, S71–S74.
15. Carpenter PA, Marshall GM, Giri N, Vowels MR, Russell SJ. Allogeneic bone marrow transplantation for children with acute lymphoblastic leukemia conditioned with busulfan, cyclophosphamide and melphalan. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 489–494.
16. Klingebiel T, Henze G, Ebell W, Reiter A, Zintl F, Bender GC et al. Bone marrow transplantation in children for ALL in 2nd and 3rd remission with preparation by TBI and etoposide. *Blood* 1998; 92: 352b.
17. Gupta T, Kannan S, Dantkale V, et al. Cyclophosphamide plus total body irradiation compared with busulfan plus cyclophosphamide as a conditioning regimen prior to hematopoietic stem cell transplantation in patients with leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2011;4(1):17-29.
18. Petropoulos D, Worth L, Mullen C, Madden R, et al .Total body irradiation, fludarabine, melphalan, and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for advanced pediatric hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplantation* (2006) 37, 463–467.
19. Davies SM, Ramsay NK, Klein JP, Weisdorf DJ, Bolwell B, Cahn JY et al. Comparison of preparative regimens in transplants for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* (2000) ; 18: 340–347.
20. Appelbaum F, Forman S et al .Thomas' Hematopoietic Stem Cell Transplantation. .4th Edition. © 2004 Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 978-1-405-15348-5
21. Thomas D, Buckner C, Banaii M, et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogenic marrow transplantation. *Blood* 1997; 49 : 511-533.