



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**UAB**

Universitat Autònoma de Barcelona

**FACULTAT DE MEDICINA**

Departament de Pediatria, Obstetricia i Ginecologia,  
Medicina Preventiva i Salut Pública



**TESIS DOCTORAL**

Título:

**“Desarrollo de neoplasias secundarias después del trasplante de progenitores hematopoyéticos realizado en edad pediátrica”**

**Autora: Luisa Sisinni**

**Directora: Profesora Isabel Badell Serra**

2016





Doctorado en Pediatría, Obstetricia y Ginecología,  
Medicina Preventiva y Salud Pública

**FACULTAT DE MEDICINA**

Departament de Pediatria, Obstetricia i Ginecologia,  
Medicina Preventiva i Salut Pública

## **TESIS DOCTORAL**

Título:

**“Desarrollo de neoplasias secundarias después  
del trasplante de progenitores hematopoyéticos  
realizado en edad pediátrica”**

**Autora:** Luisa Sisinni

**Directora:** Profesora Isabel Badell Serra

2016



## *Agradecimientos*

*Me gustaría recordar y expresar mi agradecimiento a todas las personas que me han ayudado en este proyecto, con sugerencias, críticas y observaciones, aunque sólo mía es la responsabilidad por cada error incluido en esta Tesis.*

*En primer lugar a mi directora de Tesis, la Profesora Isabel Badell Serra, quien ha sido la creadora de este proyecto y ha permitido su realización, gracias al seguimiento meticuloso de los pacientes. La confianza y disponibilidad en apoyarme con su sabia guía me ha permitido llevar a cabo este proyecto. Muchas gracias por cada pequeña enseñanza y el ejemplo de fuerza y determinación.*

*Gracias al Dr. Ignasi Gich Saladich, del departamento de Epidemiología del Hospital de Sant Pau, por su indispensable ayuda en el análisis estadístico de los datos.*

*Un agradecimiento al Dr. Gerard Gómez Segura Escobar, del Servicio de Radioterapia, por su desinteresada colaboración proporcionándome material bibliográfico, y a la Dra. M<sup>a</sup>Teresa Puíg Reixach, del departamento de Epidemiología, por su disponibilidad y sus útiles indicaciones.*

*Gracias al Dr. Jaume Galceria del Registre de Càncer de Tarragona por los valiosos datos que me ha otorgado.*

*Un agradecimiento particular a mis compañeros y amigos que me han apoyado o que han dedicado parte de su tiempo para discutir conmigo los borradores del proyecto.*

*A todo el Servicio de Pediatría, médicos, enfermeros y administrativos, que han colaborado en el tratamiento y seguimiento de estos pacientes.*

*Finalmente me gustaría agradecer a las personas más queridas: mis padres y mis hermanos, a quienes está dedicado este trabajo. Su constante apoyo ha sido mi fuerza y sin ellos no lo habría conseguido.*



*A mi familia*



# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
<b>3.1</b>	<b>Trasplante hematopoyético</b>	<b>5</b>
3.1.1	<i>Historia del trasplante hematopoyético</i>	5
3.1.2	<i>La célula stem hematopoyética</i>	7
3.1.3	<i>Tipos de trasplante hematopoyético</i>	9
3.1.3.1	<i>Trasplante hematopoyético autólogo (Auto-TPH)</i>	10
3.1.3.2	<i>Trasplante hematopoyético alogénico (Alo-TPH)</i>	11
3.1.4	<i>El Sistema HLA y tipos de donantes</i>	12
3.1.5	<i>Fuente de progenitores hematopoyéticos</i>	18
3.1.6	<i>Tipos de acondicionamientos</i>	20
3.1.7	<i>Radioterapia Corporal Total</i>	22
3.1.7.1	<i>Historia y bases físicas de radioterapia</i>	22
3.1.7.2	<i>Mecanismo del daño por irradiación</i>	23
3.1.7.3	<i>Complicaciones de la radioterapia</i>	24
3.1.7.4	<i>Efectos de la radioterapia en la médula ósea</i>	25
3.1.8	<i>Indicaciones pediátricas de trasplante hematopoyético</i>	28
<b>3.2</b>	<b>Complicaciones del trasplante hematopoyético</b>	<b>31</b>
3.2.1	<i>Complicaciones precoces</i>	31
3.2.2	<i>Complicaciones tardías</i>	36
3.2.2.1	<i>EICH crónica</i>	36
3.2.2.2	<i>Déficit del crecimiento</i>	38
3.2.2.3	<i>Disfunción gonadal</i>	39
3.2.2.4	<i>Disfunción tiroidea</i>	41
3.2.2.5	<i>Disfunción pulmonar</i>	41
3.2.2.6	<i>Disfunción cardíaca</i>	42
3.2.2.7	<i>Disfunción renal</i>	43
3.2.2.8	<i>Disfunción digestiva</i>	43
3.2.2.9	<i>Complicaciones oculares</i>	44
3.2.2.10	<i>Complicaciones esqueléticas</i>	45
3.2.2.11	<i>Complicaciones auditivas</i>	45
3.2.2.12	<i>Complicaciones dentales</i>	45
<b>4</b>	<b>SEGUNDAS NEOPLASIAS</b>	<b>47</b>
<b>4.1</b>	<b>Predisposición al cáncer</b>	<b>47</b>
4.1.1	<i>Predisposición a neoplasias hematológicas</i>	48
<b>4.2</b>	<b>Segundas neoplasias en pacientes oncológicos</b>	<b>51</b>

4.2.1	<i>Segundas neoplasias post radioterapia</i>	52
<b>4.3</b>	<b>Segundos tumores sólidos post-TPH</b>	<b>55</b>
4.3.1	<i>Cáncer de mama</i>	65
4.3.2	<i>Cáncer de tiroides</i>	66
4.3.3	<i>Sarcomas</i>	68
4.3.4	<i>Cáncer de piel</i>	69
4.3.5	<i>Tumores del sistema nervioso central</i>	69
4.3.6	<i>Neoplasias hematológicas</i>	70
4.3.7	<i>Síndrome linfoproliferativo post-trasplante</i>	71
<b>5</b>	<b>JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO</b>	<b>73</b>
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>PACIENTES Y MÉTODOS</b>	<b>77</b>
7.1	<b>Diseño del estudio</b>	<b>77</b>
7.1.1	<i>Criterios de inclusión:</i>	77
7.2	<b>Variables a estudio</b>	<b>78</b>
7.3	<b>Descripción de los pacientes</b>	<b>81</b>
7.4	<b>Descripción de TPH</b>	<b>83</b>
7.4.1	<i>Régimen de acondicionamiento</i>	84
7.4.2	<i>Profilaxis EICH y depleción linfocitos T</i>	86
7.4.3	<i>Radioterapia previa al TPH</i>	87
7.5	<b>Análisis de datos</b>	<b>89</b>
<b>8</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>91</b>
8.1	<b>Estudio de supervivencia</b>	<b>91</b>
8.1.1	<i>Supervivencia global</i>	91
8.1.2	<i>Supervivencia libre de evento</i>	92
8.1.3	<i>Supervivencia libre de evento según enfermedad</i>	93
8.1.4	<i>Supervivencia libre de evento según tipo de trasplante y donante</i>	94
8.1.5	<i>Causas de éxitus</i>	95
8.2	<b>Segundas neoplasias</b>	<b>97</b>
8.2.1	<i>Incidencia acumulada segundas neoplasias malignas</i>	97
8.2.2	<i>Tipología de neoplasias</i>	98
8.2.3	<i>Características de los pacientes con segunda neoplasia</i>	99
8.2.3.1	<i>Neoplasias cutáneas</i>	103
8.2.3.2	<i>Carcinomas de tiroides</i>	104
8.2.3.3	<i>Neoplasias ginecológicas</i>	105
8.2.3.4	<i>Sarcomas</i>	106
8.2.3.5	<i>Neoplasia cerebral</i>	107

8.2.3.6	<i>Neoplasias digestivas</i>	107
8.2.3.7	<i>Segundas neoplasias hematológicas post-trasplante</i>	107
8.2.3.8	<i>Síndrome linfoproliferativo post-trasplante</i>	108
8.2.4	<i>Análisis univariante</i>	109
8.2.5	<i>Análisis multivariante</i>	111
8.2.6	<i>Análisis exceso de riesgo</i>	112
8.2.7	<i>Neoplasias benignas</i>	115
<b>9</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>117</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>127</b>
<b>11</b>	<b>APLICABILIDAD DE NUESTRO ESTUDIO</b>	<b>129</b>
<b>12</b>	<b>FORTALEZAS Y LIMITACIONES</b>	<b>131</b>
<b>13</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>133</b>
<b>14</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>137</b>



## Lista de tablas

<b>Tabla 1</b> indicaciones de TPH en pacientes pediátricos _____	29
<b>Tabla 2</b> Estadios de severidad de la EICH aguda (clasificación de Glucksberg modificada) __	33
<b>Tabla 3</b> Grados de severidad de EICH aguda (clasificación de Glucksberg modificada) _____	34
<b>Tabla 4</b> Gradación actualizada de la EICH crónica propuesta por el Grupo de Consenso Internacional en EICH crónica _____	37
<b>Tabla 5</b> Principales agentes relacionados con segundas neoplasias _____	64
<b>Tabla 6</b> Diagnóstico de base (detallado) _____	82
<b>Tabla 7</b> Tipo de TPH según donante _____	83
<b>Tabla 8</b> Fuente de progenitores hematopoyéticos _____	84
<b>Tabla 9</b> Regímenes de acondicionamiento _____	85
<b>Tabla 10</b> Dosis de TBI _____	85
<b>Tabla 11</b> Profilaxis EICH en alo-TPH _____	86
<b>Tabla 12</b> Depleción linfocitaria in vivo _____	87
<b>Tabla 13</b> Localización radioterapia pre-TPH _____	87
<b>Tabla 14</b> Causas de éxitus específicas en los 208 pacientes fallecidos _____	96
<b>Tabla 15</b> Tipo y frecuencia de las segundas neoplasias malignas _____	98
<b>Tabla 16</b> Descripción características pacientes y trasplantes de los casos con segunda neoplasia maligna. _____	101
<b>Tabla 17</b> Descripción segundas neoplasias malignas y estado actual de los pacientes. _____	102
<b>Tabla 18</b> Análisis univariante para estimación del riesgo mediante cálculo de Odds Ratio (OR) _____	110
<b>Tabla 19</b> Análisis multivariante de las variables con posible relación con la aparición de neoplasia maligna _____	111
<b>Tabla 20</b> Tasa de incidencia de neoplasias malignas en la población general (hombres) (por 100.000 habitantes). Se exponen los datos de las neoplasias observadas en nuestro trabajo	113
<b>Tabla 21</b> Número de neoplasias secundarias malignas en nuestra población (hombres) (e incidencia por 100 pacientes en cada intervalo de edad) _____	113

**Tabla 22** Tasa de incidencia de neoplasias malignas en la población general (mujeres) (por 100.000 habitantes). Se exponen los datos de las neoplasias observadas en nuestro trabajo 114

**Tabla 23** Número de neoplasias secundarias malignas en nuestra población (mujeres) (e incidencia por 100 pacientes en cada intervalo de edad) \_\_\_\_\_ 114

**Tabla 24** Tipología de tumores benignos. \_\_\_\_\_ 115

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> Trasplante hematopoyético en niños en España (datos de la ONT) _____	10
<b>Figura 2</b> Estructura moléculas HLA I y II _____	14
<b>Figura 3</b> Genes de clase I y II _____	15
<b>Figura 4</b> Impacto de la identidad HLA en la supervivencia en el trasplante no emparentado (Lee et al. Blood 2007) _____	17
<b>Figura 5</b> Impacto de la identidad HLA en la supervivencia (izquierda) y mortalidad relacionada con el trasplante (derecha) en el trasplante de cordón umbilical. (Eapen et al. Blood 2014) __	18
<b>Figura 6</b> Representación de los primeros procedimientos de irradiación corporal total en 1903 (Dessauer 1905) _____	22
<b>Figura 7</b> Posición del paciente durante una sesión de irradiación corporal total _____	27
<b>Figura 8</b> Principales enfermedades de base _____	82
<b>Figura 9</b> Curva de Supervivencia global _____	91
<b>Figura 10</b> Curva de Supervivencia actuarial libre de evento _____	92
<b>Figura 11</b> Curva de supervivencia actuarial libre de evento según tipo de enfermedad _____	93
<b>Figura 12</b> Curva de Supervivencia actuarial libre de evento según tipo de trasplante y donante _____	94
<b>Figura 13</b> Causas de éxitus en los 208 pacientes fallecidos _____	95
<b>Figura 14</b> Incidencia acumulada segundas neoplasias malignas _____	97
<b>Figura 15</b> Tiempo de latencia (años) desde el TPH hasta la aparición de la segunda neoplasia maligna _____	100



## ABREVIATURAS

<b>Alo</b>	alogénico
<b>APC</b>	células presentadoras de antígenos
<b>ATG</b>	timoglobulina anti timocítica
<b>Auto</b>	autólogo
<b>BU</b>	busulfan
<b>CARBO</b>	carboplatino
<b>CFM</b>	ciclofosfamida
<b>CsA</b>	ciclosporina
<b>CSH</b>	célula stem hematopoyética
<b>DE</b>	donante emparentado
<b>DLA</b>	dog leucocyte antigen
<b>DNE</b>	donante no emparentado
<b>EBMT</b>	european bone marrow transplant
<b>EICH</b>	enfermedad de injerto contra el huésped
<b>G-CSF</b>	factor estimulador de colonias granulocíticas
<b>GvT</b>	graft versus tumor
<b>HLA</b>	human leucocyte antigen
<b>HSCT</b>	hematopoietic stem cell transplantation
<b>IBMTR</b>	International bone marrow transplant registry
<b>LAL</b>	leucemia aguda linfoblastica
<b>LAM</b>	leucemia aguda mieloblastica
<b>MA</b>	régimen mieloablativo
<b>MMF</b>	mofetil micofenolato
<b>MTX</b>	metotrexate
<b>NMA</b>	régimen no mieloablativo
<b>ONT</b>	organización nacional de trasplantes
<b>OR</b>	odds ratio
<b>PDN</b>	prednisona
<b>RDT</b>	radioterapia
<b>RR</b>	riesgo relativo
<b>SAA</b>	severe acquired aplasia (aplasia severa adquirida)
<b>SCID</b>	severe common immune deficiency

<b>SD</b>	sibling donor (donante hermano)
<b>SG</b>	supervivencia global
<b>SIR</b>	standardized incidence ratio
<b>SLE</b>	supervivencia libre de evento
<b>SLPT</b>	síndrome linfoproliferativo post trasplante
<b>SOS</b>	síndrome obstrucción sinusoidal
<b>TAI</b>	toraco abdominal irradiation
<b>TBI</b>	total body irradiation (irradiación corporal total)
<b>TPH</b>	trasplante de progenitores hematopoyéticos
<b>VOD</b>	veno-oclusive disease (enfermedad veno-oclusiva hepática)
<b>VP16</b>	etoposido
<b>WMDA</b>	world marrow donor association





## 1 RESUMEN

### INTRODUCCIÓN

El trasplante de progenitores hematopoyético (TPH) es un procedimiento médico que permite la curación de numerosas enfermedades en edad pediátrica. Se ha descrito un riesgo aumentado de desarrollar una neoplasia secundaria en esta población de pacientes que representa una importante causa de mortalidad tardía.

El objetivo de este estudio es analizar la incidencia de neoplasias secundarias y los posibles factores de riesgo asociados.

### PACIENTES Y MÉTODOS

Hemos analizado la evolución a largo plazo de 371 pacientes sometidos en edad pediátrica a un trasplante hematopoyético (alogénico o autólogo) en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau entre 1984 y 2013.

Se ha calculado la incidencia acumulada de neoplasias secundarias a 30 años de seguimiento. Se ha realizado análisis univariante y multivariante de los factores de riesgo mediante test de Chi-cuadrado y el modelo de regresión logística binaria (Odds Ratio). Se ha analizado el exceso de riesgo de segundas neoplasias mediante comparación del número de casos observados en nuestra cohorte con el número de casos esperados en la población general utilizando el test de Chi-cuadrado.

### RESULTADOS

Hemos observado 19 casos de segundas neoplasias malignas, con una incidencia acumulada de 6% a 15 años, 12% a 20 años y 36% a 30 años de seguimiento.

El riesgo ha sido superior a lo esperado en la población general por cada tipo de tumor y en los diferentes intervalos de edad. La enfermedad de injerto contra el huésped crónica, la irradiación corporal total durante el acondicionamiento y la radioterapia previa al trasplante han sido los factores que se han asociados con un aumento del riesgo. La mortalidad entre los

pacientes que han desarrollado la neoplasia secundaria maligna ha sido del 42% siendo la causa de muerte en todos los casos.

### **CONCLUSIONES**

Hemos observado una incidencia de segundas neoplasias post-TPH del 5,1%, siendo significativamente más alta de lo esperado ( $p=0,000$ ). Los factores que se han relacionado con un aumento del riesgo han sido la EICH crónica, la TBI y la RDT previa al TPH.

## 2 SUMMARY

### INTRODUCTION

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a medical procedure that allows the cure of many paediatric diseases. It has been described an increased risk of new malignancies in this population and it represents an important cause of late mortality.

The purpose of this study is to analyse the incidence of secondary malignancies and the associated risk factors.

### PATIENTS AND METHODS

We analyzed the late evolution of 371 patients submitted at pediatric age to hematopoietic transplantation (HSCT) (allogeneic or autologous) in Santa Creu i Sant Pau Hospital between 1984 and 2013.

It has been calculated the cumulative incidence of secondary malignancies at 30 years of follow-up. It has been done univariate and multivariate analysis of risk factors through Chi-squared test and binary logistic regression method (Odds Ratio). It has been studied the risk excess for new malignancies through comparison of observed cases in our cohort with the expected cases in the general population by using Chi-squared test.

### RESULTS

We observed 19 cases of secondary malignancies with a cumulative incidence of 6% at 15 years, 12% at 20 years and 36% at 30 years of follow-up.

The risk was higher of expected in general population for each tumor type and in the different range of age.

Chronic graft versus host disease, total body irradiation of conditioning and previous radiotherapy were the factors related with an increased risk.

Mortality was 42% between patients with a new malignancy and it was the cause of death for all the cases.

## **CONCLUSION**

We observed an incidence of secondary malignancies after HSCT of 5.1% that is significantly higher compared to the expected in the general population ( $p=0,000$ ). The factors that have been related to an increased risk were chronic GvHD (graft versus host disease), TBI and radiotherapy administered previously.

### 3 INTRODUCCIÓN

El trasplante de progenitores hematopoyético (TPH) es un procedimiento médico altamente especializado que permite la curación de numerosas enfermedades malignas y no-malignas, congénitas y adquiridas, en edad pediátrica y adulta. En los últimos años, los avances en las técnicas de trasplante y las terapias de soporte han incrementado notablemente la supervivencia llevando a un aumento del número de supervivientes a largo plazo después de un TPH. Desafortunadamente se ha descrito un riesgo aumentado de desarrollar una neoplasia secundaria que representa una importante causa de mortalidad tardía en esta población de pacientes. El análisis de los factores de riesgo es determinante para mejorar los tratamientos de acondicionamiento y las terapias de soporte relacionados con el trasplante.

#### 3.1 Trasplante hematopoyético

##### 3.1.1 Historia del trasplante hematopoyético

La historia del trasplante hematopoyético inicia al final de la segunda guerra mundial, tras las explosiones atómicas, cuando se estudiaron los daños sufridos por los sujetos que habían sobrevivido a la radiación, llegando a la conclusión que la médula ósea y por lo tanto el Sistema Hematopoyético era el órgano más sensible a la radiación y que la infusión de médula ósea podía evitar la muerte por fallo medular secundario.<sup>1</sup>

Este descubrimiento animó a los clínicos a usar protocolos de tratamiento más agresivos en pacientes con enfermedades hematológicas malignas con el objetivo de causar una toxicidad medular que erradicase la enfermedad de base; la posterior infusión de células de la médula ósea permitía evitar la muerte por aplasia medular.<sup>2,3,4</sup> En el 1957 el grupo de Seattle de Donald Thomas reportó los resultados de trasplantes de médula ósea en pacientes con leucemia aguda:<sup>5</sup> se concluyó que el tratamiento era en gran parte ineficaz dado que la mayoría de

pacientes morían por fallo del injerto o recidiva de la leucemia.<sup>6</sup> En ese momento no se conocían aún los mecanismos inmunológicos implicados en el rechazo y la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) no obstante el efecto del injerto contra leucemia había ya sido reconocido.<sup>7</sup> La decepción causada por los primeros resultados clínicos hizo que el procedimiento fuera abandonado por la mayoría de los investigadores.<sup>8</sup>

La era moderna del trasplante comienza a finales de los años 60 cuando se inicia a conocer el Sistema HLA (Human Leucocyte Antigen). Desde los primeros experimentos en ratones se observó que los mecanismos de rechazo y EICH eran controlados por factores genéticos.<sup>7,9</sup> Las hipótesis en modelos murinos se confirmaron en los perros: en los trasplantes alogénicos de médula ósea, no obstante se obtenían implantes estables a largo plazo, muchos animales fallecían por problemas relacionados al rechazo del injerto o a la EICH.<sup>10</sup>

Se concluyó que era necesario dirigir principalmente la atención a la comprensión de las barreras de histocompatibilidad que existían entre donante y receptor. En 1968 Epstein y cols.<sup>11</sup> describieron en los perros un sistema serológico de histocompatibilidad y demostraron que la compatibilidad entre donantes y receptores de la misma camada jugaba un papel fundamental en reducir los riesgos de rechazo y de EICH. Además se observó un implante prolongado en receptores emparentados y no emparentados que habían demostrado compatibilidad con técnicas serológicas y no habían evidenciado reactividad con técnicas de cultivo mixto leucocitario.<sup>12,13</sup> Más tarde se introdujo el término DLA (“dog leucocyte antigen”, antígeno leucocitario en perros) y con eso el reconocimiento que el complejo de histocompatibilidad se podía dividir en regiones de clase I y II. Los experimentos en modelos caninos, usando donantes DLA-compatibles y administrando inmunosupresión post-infusión, renovaron la confianza de poder tratar pacientes con enfermedades hematológicas con el trasplante de médula ósea.<sup>12,14</sup> Por lo que, a finales de los años 60, los resultados de los estudios preclínicos en perros iniciaron a ser trasladados a humanos realizando trasplantes a partir de hermanos HLA idénticos en individuos afectados de aplasia medular y leucemias agudas.<sup>15,16</sup>

En 1990 el Dr. Donnall Thomas fue galardonado por el premio Nobel para la Medicina por su trabajo pionero en trasplante de médula ósea.<sup>17</sup>

El trasplante hematopoyético ha pasado de ser un tratamiento experimental a una importante opción terapéutica que produce resultados clínicos asombrosos.

### 3.1.2 La célula stem hematopoyética

---

El trasplante hematopoyético consiste en la infusión de células progenitoras hematopoyéticas (células stem, CSH) con el objetivo de reconstituir un sistema hematopoyético normal del paciente dado que las células estaminales hematopoyéticas tienen capacidad de proliferación, diferenciación y auto-renovación. Esta última propiedad se define como la capacidad de una célula de dividirse sin maduración, dando una progenie idéntica a la célula original. La auto-renovación puede ser simétrica, en la que una células stem se divide en dos células hijas idénticas, o asimétrica, cuando una de las dos células hijas entra ya en proceso de diferenciación. Este modelo es el que sigue la célula stem hematopoyética.

Los experimentos pioneros que demostraron la existencia de las CSH con estas tres propiedades fueron desarrollados a principios de los años 60 por James Till y Ernest McCulloch, que fueron galardonados por estos hallazgos en 2005 con el premio Lasker de investigación básica.<sup>18</sup> Ellos estaban estudiando los efectos de la sensibilidad a la irradiación sobre la médula ósea (MO) y la recuperación o protección tras la misma por la administración de las células de la médula ósea no irradiada. Observaron que la radioprotección obtenida estaba en relación con la cantidad de células medulares administradas. En segundo lugar, comprobaron que a dosis sub-radioprotectoras, en los ratones que morían a los 10-15 días de insuficiencia medular se formaban en el bazo colonias de células mieloeritroides y megacariocíticas y que el número de colonias también era proporcional a la dosis celular administrada. Comprobaron que cada colonia provenía de un mismo progenitor clonogénico. Finalmente, demostraron que en las colonias existían células con capacidad de proteger y reconstituir desde el punto de vista hematopoyético a diferentes animales irradiados letalmente, demostrando la existencia de células con auto-renovación y capacidad de diferenciación mieloeritroide y megacariocítica en nuevos animales.

Los procesos de movilización y anidamiento (“homing”) de las células stem hematopoyéticas (CSH) desde y hacia la médula ósea son fundamentales para el desarrollo del trasplante hematopoyético. Entendemos como movilización el proceso de salida de CSH desde la MO hacia SP, generalmente tras la administración de algún agente movilizador; las células movilizadas serán posteriormente recolectadas para su administración en el trasplante autólogo o alogénico. El proceso de homing consiste en el anidamiento de las CSH, tras su administración endovenosa, en el nicho medular.

La fuente de progenitores hematopoyéticos usada en los estudios iniciales de TPH en los perros fue medula ósea obtenida mediante aspiración a nivel de humeros y fémures. Se observó que las células conservadas a  $-80^{\circ}$  en dimetil sulfóxido eran capaces de reconstituir *in vitro* el 80% de unidades formantes colonias e inducían la reconstitución hematopoyética de los perros irradiado a dosis letales.<sup>19,14,20</sup> Se observó también que los progenitores hematopoyéticos presentes en sangre periférica (autólogos o alogénicos) podían ser usados con éxito en sustitución de la medula ósea, consiguiendo también reconstitución de la hematopoyesis.<sup>21, 22,12,23,24,25</sup>

Ya en los años 30 Woenkhaus, haciendo experimentos parabióticos en los que unía la circulación de dos ratas, mientras una era irradiada y la otra protegida con una placa de plomo, observó que un tercio de las parejas sobrevivía al experimento, que él atribuyó a un “factor protector de la radiación” que provenía de la rata no irradiada pero que en realidad eran células progenitoras hematopoyéticas circulantes. A finales de los años 50 se comprobó la existencia de células circulantes con capacidad de división fuera de la medula ósea y en 1962 Goodman y Hodgson demostraron por primera vez que existían, en la SP murina, células con capacidad de producir una reconstitución hematopoyética en receptores letalmente irradiados. Experimentos posteriores sugerían que la presencia de CSH en sangre periférica era unas 100 veces inferior a la MO y estudios cuantitativos demostraron que era necesario un número de CSH periféricas aproximadamente 10 veces mayor respecto a las células medulares para garantizar un implante estable.<sup>26,21</sup>

Se han experimentado en perros varios agentes movilizadores para inducir la expansión y movilización a sangre periférica de las células hematopoyéticas provenientes de medula ósea, por ejemplo se observó que la quimioterapia (ej.

ciclofosfamida) tenía efecto movilizador porque incrementaba el número de CSH circulantes.<sup>27</sup> Sin embargo no fue hasta el desarrollo del factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF) en los años 80 y principio de los 90 cuando la movilización de CSH permitió el uso en la práctica clínica de la sangre periférica en el trasplante hematopoyético.<sup>28,29</sup> Más recientemente la comprensión de las interacciones entre las CSH y el nicho medular ha permitido desarrollar nuevos agentes (ej. el antagonista de CXCR4 AMD3100).<sup>30</sup> Se han ido experimentado, además, numerosas técnicas de aféresis para facilitar la recolección de las células periféricas.<sup>31,32,33</sup>

### 3.1.3 Tipos de trasplante hematopoyético

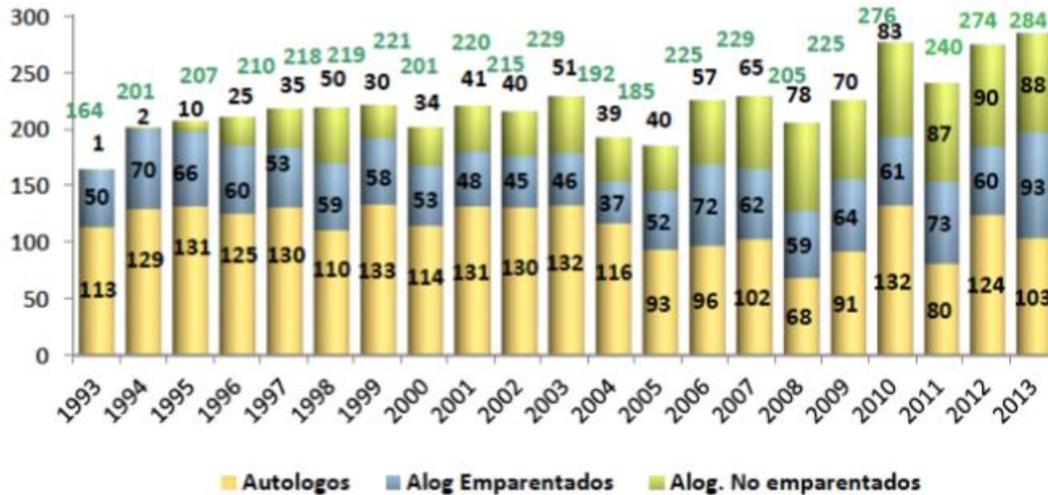
---

Los dos principales tipos de TPH son el autólogo, que usa los progenitores del paciente mismo y el alogénico, que usa células hematopoyéticas de un donante. Las indicaciones de trasplante incluyen:

- 1) Tratamiento de enfermedades neoplásicas.
- 2) Recambio o modulación de un sistema hematopoyético o inmunológico ausente o pobre.
- 3) Tratamiento de enfermedades genéticas en que la expresión insuficiente del gen afectado puede ser parcialmente o completamente sustituida por las células hematopoyéticas circulantes trasplantadas a partir de un donante que presenta una normal expresión de ese gen.

De acuerdo con los datos recogidos en el IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry) cada año se realizan en EEUU más de 10.000 trasplantes autólogos y más de 5.000 alogénicos. Según los datos del grupo EBMT (European Bone Marrow Transplant Group) en el año 2012 se realizaron en Europa casi 20.000 trasplantes autólogos y más de 14.000 alogénicos, en 48 Países con casi 700 centros trasplantadores. España realiza entre 200-300 trasplantes por 10 millones de habitantes al año (mha). En la Figura 1 se reportan los datos en población pediátrica en España según la ONT (Organización Nacional de Trasplantes): como se puede observar en la última

década se ha registrado un aumento del número de trasplantes alogénicos y en particular de los TPH realizados a partir de donantes no emparentados.



**Figura 1** Trasplante hematopoyético en niños en España (datos de la ONT)

### 3.1.3.1 *Trasplante hematopoyético autólogo (auto-TPH)*

El fundamento del auto-TPH es el control de la patología neoplásica mediante la exposición del paciente a mega-dosis de tratamiento de acondicionamiento (mieloablatoivo) con el objetivo de sobrepasar la resistencia de las células tumorales. Las células progenitoras proceden del propio paciente y han sido extraídas y críopreservadas días o semanas antes de iniciar el acondicionamiento. La infusión de células hematopoyéticas del paciente precedentemente recolectadas permite el uso de regímenes de alta intensidad que en tratamientos estándar no se podrían utilizar a causa de la alta toxicidad a nivel hematopoyético.

Las indicaciones en edad pediátrica para el auto-TPH incluyen principalmente linfomas (Hodgkin y no-Hodgkin), tumores sólidos en fase avanzada (neuroblastoma estadio IV, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Wilms, tumores cerebrales, tumores de células germinales, sarcoma de Ewing de alto riesgo) y enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide juvenil, diabetes mellitus tipo I).

Una limitación de este procedimiento en las enfermedades neoplásicas es la posibilidad de reinfundir células malignas, inadvertidamente recolectadas en el proceso de movilización de progenitores, y que contribuye a la alta incidencia de recidivas observadas después de un trasplante autólogo. Además, aunque el trasplante autólogo está asociado a una inferior mortalidad a corto plazo, muchos tumores malignos son resistentes a las terapias a dosis altas requiriendo posteriormente un trasplante alogénico para obtener la curación.

### 3.1.3.2 *Trasplante hematopoyético alogénico (alo-TPH)*

---

En el trasplante alogénico las células progenitoras proceden de un sujeto sano diferente al enfermo. Este es el verdadero trasplante, similar al trasplante de órganos sólidos.

En el trasplante alogénico, además de las altas dosis de tratamiento de acondicionamiento, las diferencias inmunológicas entre donante y receptor inducen un adicional efecto injerto contra tumor (graft-versus-tumor, GvT) que juega un papel importante en la cura de las enfermedades malignas. La reacción GvT está mediada por los linfocitos T del donante y está relacionada con las diferencias existentes entre donante y receptor a nivel de los antígenos del sistema de histocompatibilidad HLA mayor y menor. Estos antígenos, pero, están expresados también en los tejidos normales del receptor y esto está a la base de la complicación más frecuente del alo-TPH, la enfermedad del injerto contra huésped (EICH).<sup>34,35</sup>

Los fundamentos del alo-TPH son:

- 1) Reconstitución de una normal función hematopoyética alterada a causa de una patología de la célula estaminal hematopoyética (leucemias agudas y crónicas, síndromes mielodisplásicos, aplasia medulares, beta-talasemia, drepanocitosis, fallos medulares congénitos, inmunodeficiencias, errores congénitos del metabolismo).
- 2) Control de la patología neoplásica.
- 3) Inmunoterapia (leucemias agudas y crónicas, linfomas Hodgkin y no Hodgkin, tumores sólidos en fase avanzada).

Según el tipo de donante el alo-TPH será emparentado o no emparentado.

El trasplante emparentado será generalmente a partir de un familiar de primer grado.

La mayoría de los pacientes que requieren un trasplante alogénico desafortunadamente no disponen de un donante familiar compatible por lo que ya en los años 70 se empezó a considerar la posibilidad de utilizar donantes no emparentados (DNE). En 1974 se creó en Inglaterra el Anthony Nolan's Registry que empezó a reclutar donantes voluntarios para la donación de médula ósea. En los años siguientes surgieron otros registros en EEUU, Europa, América del Sur y Asia. Actualmente la mayoría de los Registros colaboran bajo la WMDA (World Marrow Donor Association) creada en el 1988. Al día de hoy más de 25 millones de donantes están registrados en los distintos registros alrededor del mundo.

#### **3.1.4 El Sistema HLA y tipos de donantes**

---

En el trasplante alogénico la compatibilidad entre donante y receptor a nivel del sistema de histocompatibilidad HLA (Human Leucocyte Antigen) es extremadamente importante siendo a la base de las reacciones inmunitarias que provocan el rechazo del implante y la enfermedad del injerto contra huésped.<sup>36</sup> El grado de incompatibilidad se relaciona con el éxito del trasplante.

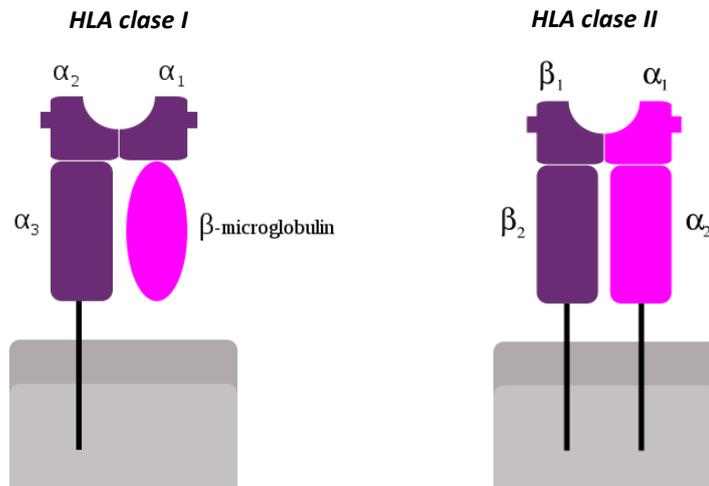
El sistema HLA incluye una serie de glicoproteínas de membranas y los genes codificantes, y biológicamente ejerce un papel importante en la regulación de la respuesta inmunitaria.<sup>37</sup> Está constituido por dos clases de moléculas que difieren en estructura, genes y función. Las moléculas HLA de clase I están expresadas por casi todas las células nucleadas (y también las plaquetas) y están implicadas en la inmunidad adaptativa a través de los linfocitos T CD8+, que atacarán a las células que presentan patógenos o péptidos anormales (ej. antígenos tumorales). Las moléculas de clase II están restringidas a las células que presentan antígenos (APC) (ej. células dendríticas), linfocitos B, linfocitos T activados y células NK, y contribuyen a la inmunidad nativa presentando a los linfocitos CD4+ cualquier otro péptido derivado de proteínas provenientes del medio extracelular gracias a la acción de células APC.

El sistema HLA es muy diversificado y esto se manifiesta a dos niveles: se trata de un complejo multigénico y los diferentes locus son altamente polimórficos.

El sistema HLA de clase I en los humanos está formado por tres moléculas clásicas, HLA-A, HLA-B y HLA-C que ejercen las funciones antes mencionadas y otras tres moléculas no clásicas (-E, -G y -F) aparentemente menos eficaces.

EL sistema HLA de clase II incluye las moléculas presentadoras de antígenos HLA-DR, -DQ y -DP y moléculas con expresión únicamente intracelular (-DO y -DM) que modulan la llegada de péptidos por parte de las primeras.

Todas las moléculas HLA se expresan como heterodímeros en la superficie celular, siendo los dos polipéptidos denominados cadenas alfa y beta. Todas las moléculas de clase I presentan una cadena beta común de ~12KDa, denominada  $\beta$ -microglobulina, que no atraviesa la membrana celular, pero se asocia a través de enlaces no-covalentes con las cadenas alfa más pesadas (~45KDa) que definen cada molécula de clase I.<sup>38</sup> La parte extracelular de las cadenas alfa comprende tres dominios ( $\alpha_{1-3}$ ) que se conectan gracias a un segmento transmembrana a la parte citoplasmática. Los dos dominios N-terminales ( $\alpha_{1-2}$ ) forman una única estructura que constituye el dominio donde se alojan los péptidos derivados de los antígenos, bien proteínas propias o bien proteínas provenientes de un microorganismo exógeno; este dominio interactúa también con el receptor de los linfocitos T (Tcr).<sup>39,40</sup> Cada molécula de clase II está constituida por cadenas alfa y beta de similar tamaño (DQ $\alpha$ -DQ $\beta$  etc, ~30KDa) cada una unida con enlaces no-covalentes, como glicoproteínas transmembrana, a la parte N-terminal en el lado extracelular. El primer dominio de cada cadena (ej.  $\alpha_1\beta_1$ ) forma la estructura que alojará los péptidos, como en las moléculas de clase I.<sup>41</sup> (Figura 2)

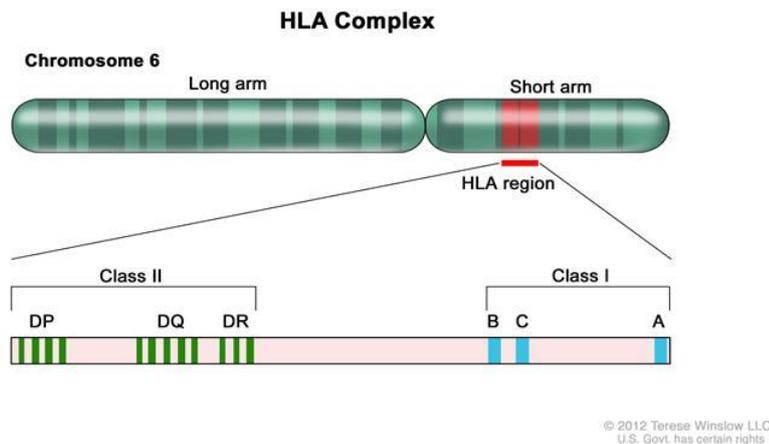


**Figura 2** Estructura moléculas HLA I y II

Con la excepción de la  $\beta$ -microglobulina, que es codificada por el gen B2M en el cromosoma 15, todas las moléculas HLA están codificadas por el complejo génico HLA de 6p21.3, conformado de manera que todos los genes de clase I se localizan en la parte telomérica y todos los de clase II en la parte centromérica.<sup>42</sup> (Figura 3)

Los genes que codifican las cadenas alfa de clase I reciben el nombre de la entera molécula (ej. HLA-A, HLA-B y a seguir), mientras que los genes de clase II se refieren a las cadenas alfa (genes A) o a las cadenas beta (genes B). Además el genoma humano codifica muchos genes y pseudogenes de clase II de la misma familia que se distinguen mediante números árabes (ej. DQA1-2, DQB1-3). Son excepciones DRA, DOA-DOB y DMA-DMB, cada uno representado por un único gen. En DQ y DP únicamente el primer gen es funcional (ej. DQA1 y DQB1) siendo los demás pseudogenes. La región DR es una excepción dado que todos los genes DRB1, DRB3, DRB4 y DRB5 son funcionales y codifican cadenas beta que se unen con la única cadena alfa DRA para formar diferentes moléculas. La región DRB se estructura de forma que ninguna persona presenta todos los genes y pseudogenes DRB sino sólo una combinación limitada que forma determinados haplotipos, así que cada haplotipo

presenta un gen DRB1 y uno o ninguno de los genes adicionales (DRB3 o DRB4 o DRB5, o ninguno de ellos). Cada individuo presenta dos alelos DRB1 acompañados por dos, uno o ningún alelo DRB3/4/5.



**Figura 3** Genes de clase I y II

El sistema HLA se caracteriza por un importante polimorfismo: cada antígeno HLA (así denominado porque genera una respuesta inmune cuando encuentra células de individuos no HLA idénticos) está formado por múltiples alelos. Actualmente están registrados 12.242 alelos en la base de datos oficial del sistema HLA. No todos los genes HLA presentan el mismo polimorfismo. Las cadenas alfa de clase II presentan seguramente menos diversidad respecto a las cadenas beta, hecho muy evidente para HLA-DR, con sólo 2 secuencias de aminoácidos codificadas por DRA mientras que DRB1 codifica más de 1.200.

La beta-2-microglobulina, común a todas las moléculas de clase I, es esencialmente monomórfica, mientras que cada cadena alfa de HLA-A, -B y -C está representada por ~1.700-2700 secuencias de aminoácidos.<sup>37, 38, 43</sup>

La distribución y frecuencia de los antígenos HLA varía notablemente entre los diferentes grupos étnicos, probablemente en relación con el papel de las moléculas HLA en la presentación de específicos agentes infecciosos en las diversas áreas geográficas.<sup>44</sup>

Se han utilizado múltiples métodos de estudio del sistema HLA en el curso de la historia, que se pueden clasificar conceptualmente en 2 categorías: técnicas

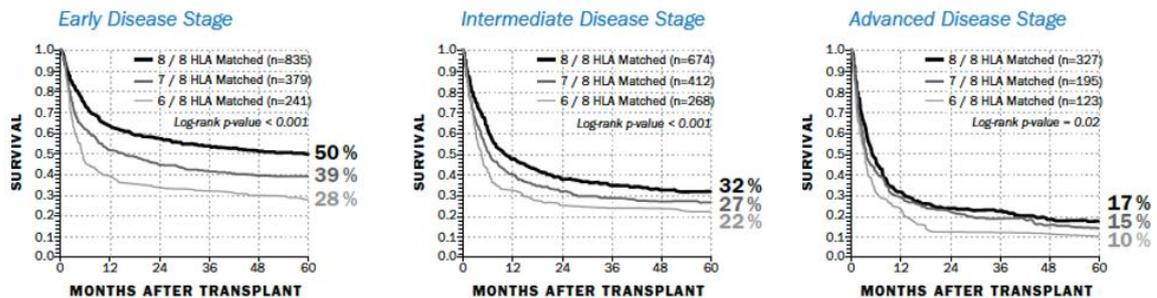
inmunológicas y bioquímicas que identifican y caracterizan las moléculas HLA y las respuestas inmunológicas contra ellas;<sup>45</sup> y métodos basados en el ADN, directos al estudio de los genes HLA que codifican las moléculas (técnicas de PCR).<sup>46</sup>

Excepto por los gemelos monocigotos, no hay otros individuos que sean completamente idénticos en todos los genes, por lo que cada donante y receptor tendrá múltiples proteínas que diferirán en uno o más aminoácidos. Estos polimorfismos, colectivamente designados con el término de “antígenos menores de histocompatibilidad” pueden provocar una respuesta inmune, por lo que no hay trasplante hematopoyético que sea completamente seguro. Se considera que el menor riesgo que se desencadene una respuesta inmune se alcanza cuando donante y receptor comparten todos los alelos HLA y presentan menos diferencias posibles en los antígenos menores de histocompatibilidad.

Dado que la familia de genes responsable de la codificación de proteínas del sistema HLA (A, B, C y DR) se encuentra en la misma región del cromosoma 6 y se heredan generalmente en bloque como un “haplotipo” único, 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 (haplo idéntico) o distintos los dos, será del 25%, 50% y 25% respectivamente. Esto significa que el mejor donante posible es un hermano HLA idéntico, habiendo heredado los mismos haplotipos HLA de ambos padres y compartiendo el 25% del genoma: normalmente se estudian los locus HLA-A, -B y -DRB1, este último siempre con un método genético.

Aproximadamente sólo el 15-30% de los pacientes que tienen que someterse a un alo-TPH disponen de un donante hermano HLA idéntico. Para quien no disponga de familiar compatible se tendrá que encontrar un donante no emparentado (DNE). Los registros internacionales de donantes voluntarios han crecido notablemente y actualmente incluyen alrededor de 20 millones de donantes HLA tipificados. Debido a la presencia de múltiples diferencias posibles en los antígenos menores de histocompatibilidad, el trasplante a partir de DNE es a mayor riesgo de EICH respecto al TPH de hermano. Por estas razones es necesario ampliar el estudio HLA con el análisis de alta resolución por lo menos de 5 locus con métodos moleculares: los tres genes HLA clásicos (A, B y C) y los genes altamente polimórficos de clase II DRB1 y DQB1, pudiendo ampliar el

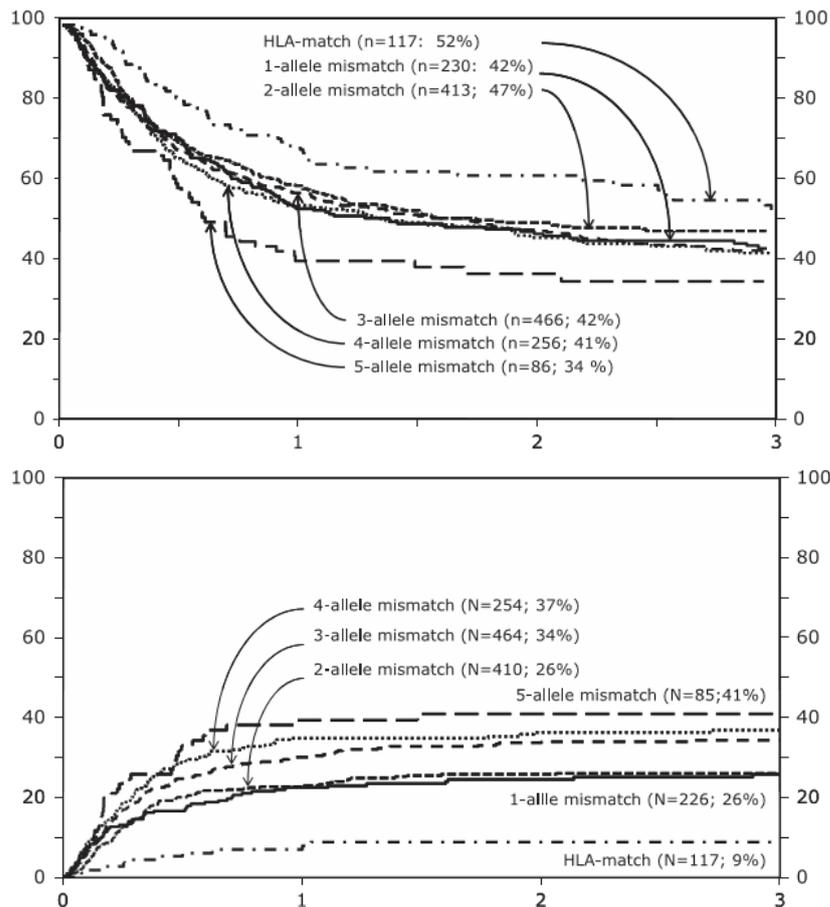
análisis para genes adicionales, si necesario. Se intentará que haya identidad máxima (8/8 o mejor 10/10). De acuerdo con los datos del Registro Internacional, la supervivencia será inferior a medida que aumente el número de incompatibilidades; en particular se asume que cada disparidad HLA disminuye la supervivencia de un 10%.<sup>36,47</sup> (Figura 4)



**Figura 4** Impacto de la identidad HLA en la supervivencia en el trasplante no emparentado (Lee et al. Blood 2007)

Habrà una proporción de pacientes, especialmente quien presente alelos HLA menos comunes, que no encontrará nunca un donante HLA compatible. Actualmente, para pacientes que no dispongan de un donante compatible (familiar o no familiar), es posible realizar un trasplante a partir de un donante familiar con 50% de compatibilidad, definido haploidéntico, porque comparte 1 haplotipo HLA. Este tipo de trasplante aún no es rutinario y se considera “trasplante de fuente alternativa”.<sup>48</sup>

Una alternativa atractiva a los donantes a partir de adultos está constituida por el cordón umbilical (CU) sobre todo por la facilidad de disponibilidad. El número de unidades de cordón umbilical disponibles es inferior al número de donantes voluntarios registrados, lo cual reduce las posibilidades de encontrar una unidad de CU compatible; por otro lado, dado que el riesgo de desarrollar EICH es inferior, es posible aceptar un número mayor de diferencias HLA (normalmente se toleran 2 diferencias HLA, que no deberán ser ambas en DRB1), aunque los resultados serán mejores cuanto mayor sea la identidad.<sup>49</sup> (Figura 5)



**Figura 5** Impacto de la identidad HLA en la supervivencia (izquierda) y mortalidad relacionada con el trasplante (derecha) en el trasplante de cordón umbilical. (Eapen et al. Blood 2014)

### 3.1.5 Fuente de progenitores hematopoyéticos

La primera fuente de progenitores hematopoyéticos, que se usó en un TPH, fue la **médula ósea** (MO) obtenida mediante múltiples punciones-aspiraciones a nivel de las crestas ilíacas, bajo anestesia local o general. Dado que las células de la médula ósea son capaces de despegarse del nicho hematopoyético, entrar en la circulación y volver nuevamente al nicho medular, la **sangre periférica movilizada** (SP) se ha convertido en una fuente cómoda que ha ido progresivamente sustituyendo la médula ósea en el auto-TPH y puede ser usada con facilidad también en el alo-TPH.<sup>50</sup> Comparada con la médula ósea, produce una recuperación hematológica más rápida pero en el caso de alo-TPH se ha

asociado a un mayor riesgo de EICH crónica <sup>51,52</sup> debido el mayor número de linfocitos T en el inóculo, hecho que la convierte en una fuente normalmente de segunda elección en pediatría.

La cantidad de células estaminales en la sangre periférica es medida mediante técnicas de citometría de flujo gracias al marcador de superficie CD34. En condiciones normales hay un escaso número de células estaminales hematopoyética circulantes, pero el número puede aumentar mediante la administración de agentes como el factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF) que causa la proliferación de neutrófilos y la liberación de proteasas; las proteasas degradan las proteínas que unen las stem-cells al estroma medular, permitiendo a las células de salir a la circulación.<sup>53</sup> Posteriormente las células podrán ser recolectadas mediante un proceso de leuco-aféresis. En el auto-TPH las células del paciente son recolectadas antes de la administración del régimen de acondicionamiento y congeladas a -120°C para ser posteriormente infundidas al paciente a las pocas semanas.

En caso de necesitar un trasplante alogénico urgente y no disponer de un donante adulto compatible, la **sangre de cordón umbilical** (SCU) es una fuente segura y de obtención rápida. Desde su primer uso en un niño con anemia de Fanconi en 1989 más de 6000 trasplantes se han realizado a partir de sangre de cordón umbilical.<sup>54</sup> La sangre del cordón umbilical, rica de progenitores hematopoyéticos, es recolectada inmediatamente después del parto y congelada. En el TPH a partir de SCU, se admite un mayor número de incompatibilidad HLA respecto al trasplante de MO o SP dado que, por tener características de células naïve, el cordón umbilical produce con menos frecuencia EICH severa sin perder, al mismo tiempo, el efecto anti-tumor.<sup>55</sup> En caso de no disponer de un número suficiente de células CD34+ se podrán añadir productos adicionales de diferentes donantes (medula ósea o sangre periférica), con el objetivo de mejorar el implante.<sup>56</sup>

### 3.1.6 Tipos de acondicionamientos

---

Los pacientes sometidos a un trasplante hematopoyético reciben un tratamiento de preparación (acondicionamiento) basado en quimioterapia combinada o menos con radioterapia y que tiene como objetivos: crear espacio en la médula ósea, eliminar células tumorales (en caso de enfermedad neoplásica) y suprimir el sistema inmune del receptor para permitir el implante de las células hematopoyéticas del donante (en el alo-TPH).<sup>57</sup> Excepciones son enfermedades como la inmunodeficiencia severa combinada (SCID) y la aplasia medular grave adquirida (SAA) que, en caso de donante hermano HLA idéntico, no necesitan acondicionamiento.

La intensidad del acondicionamiento puede variar notablemente y su elección depende de varios factores como el tipo de enfermedad, la edad y comorbilidades. En el auto-TPH el acondicionamiento será siempre intensivo (mieloablato) dado que el objetivo de este trasplante es tratar de forma intensiva la enfermedad de base y sobrepasar la resistencia de las células tumorales.

Se define **régimen mieloablato (MA)** la combinación de agentes (irradiación y/o agentes quimioterápicos alquilantes) a dosis que producen una profunda pancitopenia y mieloablación de 1 a 3 semanas desde la administración; la pancitopenia es normalmente irreversible y en muchos casos tendría consecuencias fatales si no se infundieran nuevas células hematopoyéticas.<sup>58</sup> Los acondicionamientos convencionales incluyen los esquemas ciclofosfamida (CFM) 120 mg/Kg e irradiación corporal total (total body irradiation, TBI) (10-15 Gy)<sup>59</sup> o busulfan (Bu) 16 mg/Kg (oral) y CFM 120 mg/Kg.<sup>60</sup>

Los acondicionamientos mieloablativos producen normalmente un rápido implante pero se asocian a toxicidad y mortalidad relacionada (TRM, treatment-related mortality) por lo que en los últimos 30 años se han estudiado varios esquemas con el objetivo de limitar la toxicidad precoz reduciendo la intensidad del acondicionamiento: Hobbs<sup>61</sup> usó mitad de la dosis de Busulfan (8 mg/Kg) en niños con enfermedades congénitas del metabolismo; Peter Tutchka<sup>62</sup> redujo la dosis de Ciclofosfamida de 200 a 120 mg/Kg en el clásico régimen Bu-CFM; y Lucarelli<sup>63</sup> usó Bu 14 mg/Kg en vez de 16 mg/Kg para los niños afectados de Talasemia.

Se define **régimen no mieloablato (NMA)** un acondicionamiento que causa mínimas citopenias y no requeriría el soporte de células hematopoyéticas. La acción es principalmente de inmunoblación pero se necesitan altas dosis de linfocitos T y células CD34+ del donante para facilitar el implante hematopoyético. El término “no mieloablato” se refiere únicamente al acondicionamiento porque el propio trasplante como procedimiento es mieloablato, dado que los linfocitos T del donante una vez implantados eliminarán las células hematopoyéticas del receptor, permitiendo una hematopoyesis del donante. Ejemplos de esquemas no mieloablato incluyen: fludarabina-CFM,<sup>64</sup> TBI 2 Gy,<sup>65</sup> irradiación linfode total (TLI), y globulina anti-timocítica (ATG). Respecto a los tratamientos mieloablato la TRM es inferior y la EICH aguda es retardada pudiendo desarrollarse después del día 100.<sup>66</sup>

Los **regímenes de intensidad reducida (RIC)** presentan características intermedias: difieren de los tratamientos no mieloablato porque causan citopenias que pueden ser prolongadas y requieren soporte de células hematopoyéticas. La recuperación autóloga podría ser posible aunque la pancitopenia puede asociarse a un aumento de morbi-mortalidad. Respecto a los regímenes mieloablato, la dosis de agentes alquilantes o TBI es reducida por lo menos de un 30%. Frecuentemente se basan en la asociación de fludarabina con un agente alquilante, melfalan (Mel),<sup>67</sup> busulfan <sup>68</sup> o tiotepa a dosis reducidas, o fludarabina con dosis reducidas de TBI.<sup>69</sup>

La TRM es inferior después de un régimen de intensidad reducida, como se ha confirmado en varios estudios de registro que han comparado regímenes RIC y MA.<sup>70,71</sup>

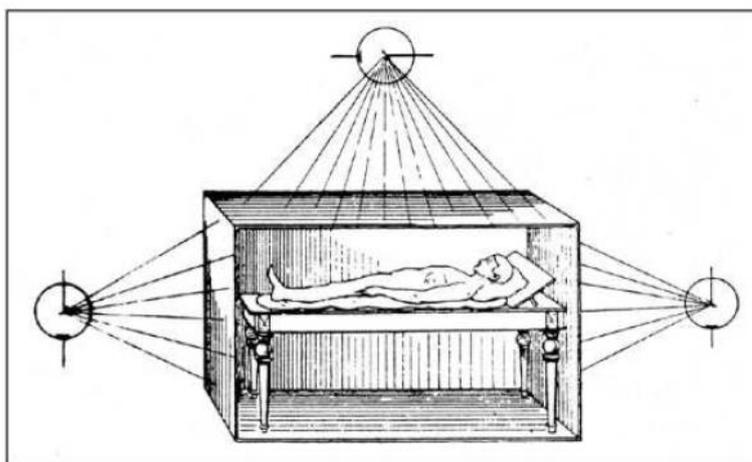
### 3.1.7 Radioterapia Corporal Total

#### 3.1.7.1 Historia y bases físicas de radioterapia

La historia de la radioterapia inicia con el descubrimiento de los Rayos X en 1895 por parte del físico alemán Wilhem Konrad Röntgen y de la radioactividad en 1898 por Henri Becquerel que llevó al reconocimiento de los efectos biológicos de la irradiación. A partir de la primera década de Novecientos las radiaciones ionizantes iniciaron a usarse para el tratamiento de enfermedades malignas y benignas y, en ocasión del congreso internacional de oncología en Paris en el 1922, Henri Coutard presentó la primera evidencia de como la irradiación fraccionada podía ser usada para curar el cáncer de laringe sin causar importantes secuelas.

Los tratamientos radioterápicos iniciales eran esencialmente hipofraccionados: consistían en administrar dosis más altas a nivel de la piel y estructuras superficiales respecto a la localización tumoral más profunda. Este enfoque no permitía establecer de forma precisa la dosis acumulada y si por un lado permitía una respuesta a nivel tumoral, por el otro se acompañaba de efectos secundarios tardíos a nivel tisular.<sup>72</sup>

En 1905 Dessauer propuso que los resultados clínicos podían ser mejorados con la aplicación de dosis homogéneas a nivel de los tejidos, finalmente llegando a la idea de la técnica de irradiación fraccionada.<sup>72,73</sup> (Figura 6)



**Figura 6** Representación de los primeros procedimientos de irradiación corporal total en 1903 (Dessauer 1905)

En 1932 Coutard presentó los resultados usando este enfoque evidenciando como una irradiación fraccionada y prolongada había permitido la curación de tumores profundos con una toxicidad significativamente inferior respecto a las técnicas anteriores.<sup>74</sup>

Los sistemas de irradiación externa producen radiaciones ionizantes a través del decaimiento radioactivo de un isótopo, comúnmente el cobalto-60, o de forma electrónica a través de la aceleración de electrones u otras partículas como protones.

Los componentes básicos de un aparato de radioterapia incluyen una fuente de radiaciones, un sistema de colimación para formar y dirigir el impulso, una tapa de protección, un campo de luz para delinear visiblemente la área que tiene que ser tratada, un sistema de control para encender y apagar el impulso, un sistema para rotar el impulso y un sistema de soporte para el paciente. (Figura 7)

La cantidad de energía depositada por unidad de masa representa la dosis de irradiación absorbida. La unidad de medida oficial de dosis de irradiación es el gray, en honor a L.H. Gray, el radiobiólogo inglés que descubrió el efecto de oxígeno en la respuesta a la radioterapia (tejidos poco oxigenados son 2-3 veces más resistentes a la radiación que los tejidos bien oxigenados); esta unidad sustituyó la antigua unidad rad. Un joule por Kg corresponde a 1 gray (Gy) y 1 gray equivale a 100 cGy.

### *3.1.7.2 Mecanismos del daño por irradiación*

---

Los efectos biológicos de la radiación ionizante resultan primariamente en la formación de roturas en la doble cadena de ADN, que llevan a daños irreversibles y a muerte celular.

La combinación de quimioterapia y radioterapia puede producir mejores resultados clínicos que una sola modalidad de tratamiento aunque puede también aumentar la toxicidad a nivel de los tejidos sanos, incluso cuando los dos tratamientos se administran separados en el tiempo. En 1959 el Dr. G.J. D'Angio describió el fenómeno "radiation recall", que consiste en la reaparición de una reacción inflamatoria que se produce en el campo de irradiación y es provocado por la administración de particulares agentes, días o años después la

exposición inicial a la irradiación. En el caso descrito por D'Angio, se observó un cuadro de dermatitis en la zona que había estado irradiada, después de la aplicación de actinomicina D en la piel.<sup>75</sup> Aunque la piel es el principal tejido donde se observa este fenómeno, se puede observar también en otros órganos como mucosa intestinal, laringe, pulmones, músculos y sistema nervioso central. La causa del “radiation recall” es poco clara y, aunque el tiempo y las dosis de irradiación influyen en el riesgo y la severidad de la complicación, no está claro cuál es el umbral de dosis.

### 3.1.7.3 Complicaciones de la radioterapia

La irradiación provoca complicaciones agudas, durante o pocos días después de la exposición, y efectos tardíos que aparecen a partir de 3 meses después. Los efectos agudos más típicos involucran la piel, la mucosa del tracto gastrointestinal y la médula ósea. Los mecanismos de las complicaciones tardías incluyen daño endotelial, daño de las células estaminales parenquimatosas, o daño de ADN. Factores que influyen en estas complicaciones son la dosis total y el número de fracciones recibidas. Los órganos más severamente afectados son el sistema musculo-esquelético, endocrino, reproductivo y el SNC. En los niños, la irradiación antes de haber completado el crecimiento puede frenar o causar anomalías en el desarrollo. Dosis de irradiación superior a 20 Gy a nivel de la placa de crecimiento tienen frecuentemente efectos significativos. La edad del paciente influye en la severidad del daño, que es mayor en niños pequeños. La irradiación de la glándula pituitaria e hipotálamo puede causar talla baja por la disminución de hormona de crecimiento. La irradiación espinal en el tratamiento del meduloblastoma en edad prepuberal causa también acortamiento de la columna. Las secuelas neurocognitivas después de irradiación cerebral representan unas de las complicaciones más serias. La edad del paciente, la dosis y el volumen tratado influyen en la severidad de los efectos. Las células germinales de testes y ovarios pueden verse afectadas por la radioterapia: los varones que recibieron irradiación a nivel abdominal pueden desarrollar disfunción gonadal. Una disminución temporal en la cantidad de espermatozoides se verifica en las semanas siguientes después de dosis bajas (0,2-3 Gy) y la recuperación se puede producir en 1-3 años dependiendo de la dosis y de la

edad del paciente. La irradiación testicular con dosis de 24 Gy causa esterilidad y disfunción de las células de Leyding. La irradiación corporal total combinada con ciclofosfamida para el trasplante hematopoyético, resulta en azospermia en casi la totalidad de pacientes. En las niñas la irradiación abdomino-pélvica causa fallo ovárico: la incidencia depende de la edad y la dosis recibida.

Además del daño orgánico, uno de los efectos tardíos más severos relacionados con la irradiación es el desarrollo de segundas neoplasias. Más frecuentemente la radioterapia se relaciona con la aparición de tumores sólidos en la zona precedentemente irradiada, con una histología diferente al tumor primario y con una latencia de aparición de varios años. Diferentes factores podrían estar implicados en el desarrollo de segundas neoplasias: una predisposición genética de base, la dosis de irradiación, la edad y género, el tipo de tejidos irradiados. El riesgo de segundos tumores relacionados con la irradiación aumenta con los años, en contraste con lo observado en caso de mielodisplasias y leucemias relacionadas con el tratamiento, que alcanzan un plateau después de 10-15 años.

#### 3.1.7.4 Efectos de la radioterapia en la médula ósea

Las células progenitoras hematopoyéticas presentes en la médula ósea son extremadamente sensibles a la acción de la irradiación.<sup>1</sup>

Como se ha explicado anteriormente, el grupo de Seattle de Donald Thomas fue el primero en observar en experimentos animales que la infusión intravenosa de médula ósea autóloga o alogénica (fresca o criopreservada) en perros precedentemente irradiados con dosis letales de irradiación permitía una recuperación del tejido medular y linfoide.<sup>2,3,4</sup> Por otro lado todos los animales, a los cuales no se había administrado el rescate después de una irradiación corporal total de 400 cGy, morían de las complicaciones asociadas al fallo medular.

Diversos estudios evidenciaron que el tiempo de exposición a la irradiación y la dosis total eran los factores que más se asociaban a la toxicidad aguda post-TBI. En modelos animales se observó que la dosis global tolerada podía incrementarse desde 10 a 14 Gy reduciendo el periodo de exposición de 10 a 5

cGy/min. Generalmente la toxicidad aguda se relacionaba con la tasa de exposición mientras que la toxicidad crónica con la dosis total administrada.<sup>76,77</sup> Para disminuir la toxicidad en humanos pero, al mismo tiempo, mantener el efecto anti-tumor y promover un implante estable, se investigó en perros un nuevo abordaje usando dosis de TBI superiores pero administradas de forma fraccionada.<sup>78,79,80</sup> Los tejidos de esta forma se veían afectados en menor medida. Como consecuencia, las complicaciones a largo plazo eran significativamente inferiores en los animales que recibían TBI de forma fraccionada respecto a TBI en dosis única. Cuando dosis totales de 12-21 Gy venían administradas en fracciones de 1,5-2 Gy en intervalos de 3-6 horas, con tasas de exposición de 2 a 20 cGy/min, se veía una ventaja en la toxicidad aguda sólo en caso de exposición más alta (20 cGy/min).<sup>78</sup> Se vio, además, que en caso de trasplante alogénico a partir de donante no compatible eran necesarias dosis de TBI superiores que en trasplantes de donante familiar idéntico. Cuando se administraba TBI a dosis 1800 cGy en fracciones de 600 cGy a 2,1 cGy/min en intervalos de 48h, la inmunosupresión alcanzada era suficiente para permitir un implante estable de un donante no compatible.<sup>81</sup> En general los datos disponibles acerca de la dosis óptima total y la dosis óptima por fracción son limitados. Los regímenes mieloablativos iniciales usaban fracciones únicas y de larga duración de 8-10 Gy. Estos regímenes se asociaban a una alta tasa de muerte por pneumonitis intersticial. El fraccionamiento y la reducción de la dosis redujeron este riesgo. Los regímenes más habituales combinaban TBI 12 Gy, administrada de forma fraccionada, 2 veces al día durante 3 días, en combinación con quimioterapia. Estos acondicionamientos se proponían ofrecer un efecto citotóxico e inmunosupresor como parte del alo-TPH. Los intentos de disminuir la tasa de recaídas aumentando la dosis de TBI a 15-16 Gy no mejoraron la supervivencia, dado que el beneficio estaba anulado por el aumento de muertes no relacionados con la recaída en los primeros 6-12 meses después del trasplante debido a la toxicidad del tratamiento. Otros regímenes han sido estudiados, como un aumento más modesto de la dosis a 13-14 Gy, o las fracciones únicas diarias, sin relacionarse con un claro beneficio en la supervivencia.<sup>82</sup> La administración de la irradiación para que englobe todo el cuerpo se basa en métodos antero-posterior/posterior-anterior (AP-PA) o latero-lateral. De acuerdo

con la nomenclatura, se administra “irradiación corporal total” cuando la irradiación de médula ósea, regiones linfoides y sistema nervioso central es adecuada para los objetivos terapéuticos. Para reducir la exposición de los otros órganos se han adoptado varias técnicas. La protección pulmonar con bloques que permiten reducir la dosis administrada a nivel de las porciones mediales permitiría proteger las células pulmonares evitando las complicaciones tóxicas a ese nivel (neumonitis intersticial).<sup>83</sup> (Figura 7)

Un método para limitar la toxicidad de la TBI manteniendo el efecto inmunosupresor está basado en la irradiación linfode total (TLI). Estudios en animales han demostrado un cambio en las poblaciones de linfocitos T: en particular la TLI aumentaría el compartimiento de células natural killer (NK) capaces de prevenir la EICH inhibiendo la acción de los linfocitos T en el desarrollo de EICH.<sup>84</sup>



**Figura 7** Posición del paciente durante una sesión de irradiación corporal total

### 3.1.8 Indicaciones pediátricas de trasplante hematopoyético

Actualmente más del 20% de los trasplantes alogénicos se realizan en edad pediátrica y en alrededor un tercio de los casos se trata de enfermedades raras. Las indicaciones de trasplante hematopoyético en niños están reportadas en la Tabla 1.<sup>85</sup>

Por cada indicación se reporta el nivel de evidencia.

Tratamiento estándar (S): incluye indicaciones bien definidas y generalmente suportadas por la evidencia a través de estudios clínicos u observacionales.

Tratamiento estándar, evidencia clínica disponible (C): esta categoría incluye indicaciones para las cuales no están disponibles amplios estudios clínicos u observacionales. No obstante, el trasplante hematopoyético ha demostrado ser una terapia eficaz con un riesgo aceptable de morbilidad y mortalidad en estudios de cohorte de un solo centro o multicéntricos suficientemente amplios. El trasplante puede ser considerado como una opción terapéutica después de una valoración de los riesgos y beneficios en cada paciente. En cuanto haya disponibilidad de más evidencias, algunas indicaciones pueden ser reclasificadas como “S”.

Tratamiento estándar, indicación rara (R): las indicaciones de este grupo incluyen enfermedades raras para las cuales no son actualmente posibles estudios con un número suficiente de pacientes, a causa de la baja incidencia. No obstante, estudios de registro en grupos restringidos de casos han demostrado que el TPH es un tratamiento eficaz con un riesgo aceptable de morbilidad y mortalidad y se puede considerar como opción terapéutica valorando cada caso.

En desarrollo (D): incluye enfermedades para las cuales estudios pre-clínicos o en fase precoz han demostrado que el TPH puede ser una opción terapéutica prometedora.

No generalmente recomendada (N): el trasplante no es una indicación actualmente recomendada. La eficacia de otras terapias en fases precoces de la enfermedad no justifica los riesgos del trasplante o por otro lado, no se espera un beneficio en pacientes en fases avanzadas de la enfermedad. Esta recomendación no excluye que el TPH pueda ser estudiado como posibilidad terapéutica en el contexto de ensayos clínicos.

**Tabla 1** Indicaciones de TPH en pacientes pediátricos

Indicación y Estatus enfermedad	Alo-TPH	Auto-TPH
<b>Leucemia aguda mieloblástica (LAM)</b>		
RC1, riesgo bajo	N	N
RC1, riesgo intermedio	C	N
RC1, riesgo alto	S	N
RC2+	S	N
No remisión	C	N
Leucemia aguda promielocítica, recaída	R	R
<b>Leucemia aguda linfoblástica (LAL)</b>		
RC1, riesgo estándar	N	N
RC1, alto riesgo	S	N
RC2	S	N
RC3+	C	N
No remisión	C	N
<b>Leucemia mieloide crónica (LMC)</b>		
Fase crónica	C	N
Fase acelerada	C	N
Fase blástica	C	N
<b>Síndrome mielodisplásico (SMD)</b>		
Riesgo bajo	C	N
Riesgo alto	S	N
Leucemia mielo-monocítica juvenil	S	N
Relacionado con el tratamiento	S	N
<b>Linfoma no-Hodgkin de células T</b>		
RC1, riesgo estándar	N	N
RC1, alto riesgo	S	N
RC2,	S	N
RC3+	C	N
No remisión	C	N
<b>Linfoma no-Hodgkin linfoblástico de células B (no Burkitt)</b>		
RC1, riesgo estándar	N	N
RC1, alto riesgo	S	N
RC2,	S	N
RC3+	C	N
No remisión	C	N
<b>Linfoma de Burkitt</b>		
Primera remisión	C	C
Primera o siguiente remisión, sensible	C	C
Primera o siguiente remisión, resistente	C	N

<b>Linfoma de Hodgkin</b>		
RC1	N	N
Primariamente refractario, sensible	C	C
Primariamente refractario, resistente	C	N
Primera recaída, sensible	C	C
Primera recaída, resistente	C	N
Segunda o siguiente recaída	C	C
<b>Linfoma anaplasico de células grandes</b>		
RC1	N	N
Primariamente refractario, sensible	C	C
Primariamente refractario, resistente	C	N
Primera recaída, sensible	C	C
Primera recaída, resistente	C	N
Segunda o siguiente recaída	C	C
<b>Tumores sólidos</b>		
Tumor de células germinales, recaída	D	C
Tumor de células germinales, refractario	D	C
Sarcoma de Ewing, alto riesgo o recaída	D	S
Sarcoma de tejidos blandos, alto riesgo o recaída	D	D
Neuroblastoma, alto riesgo o recaída	D	S
Tumor de Wilms, recaída	N	C
Osteosarcoma, alto riesgo	N	C
Meduloblastoma, alto riesgo	N	C
Otros tumores cerebrales malignos	N	C
<b>Enfermedades no malignas</b>		
Aplasia medular grave, diagnosis	S	N
Aplasia medular grave, recaída/refractaria	S	N
Anemia de Fanconi	R	N
Disqueratosis congénita	R	N
Anemia de Blackfan-Diamond	R	N
Drepanocitosis	C	N
Talasemia maior	S	N
Trombocitopenia congénita amegacariocítica	R	N
Imunodeficiencia combinada severa (SCID)	R	N
Déficit de células T, variantes SCID	R	N
Síndrome de Wiskott-Aldrich	R	N
Enfermedades hemofagocíticas	R	N
Síndromes linfoproliferativos	R	N
Neutropenia congénita severa	R	N
Enfermedad granulomatosa crónica, otros déficit de fagocitosis	R	N
Síndrome IPEX	R	N
Artritis reumatoide juvenil	D	N
Esclerosis sistémica	D	N
Otras enfermedades autoinmunes o desordenes de la inmunidad	R	N
Mucopolisacaridosis (MPS-I y MPS-VI)	R	N
Otras enfermedades metabólicas	R	N
Osteopetrosis	R	N
Leucodistrofia de Krabbe	R	N
Leucodistrofia metacromática	R	N
Adrenoleucodistrofia ligada a X	R	N

N: no recomendado habitualmente. C: tratamiento estándar, evidencia clínica disponible. S: tratamiento estándar. R: tratamiento estándar, indicación no habitual. D: en desarrollo. RC1: primera remisión completa. RC2: segunda remisión completa. RC3: tercera remisión completa.

## 3.2 Complicaciones del trasplante hematopoyético

El trasplante hematopoyético es un procedimiento de alto riesgo y se relaciona con complicaciones agudas y crónicas.

En el caso del trasplante autólogo las complicaciones se relacionan con la toxicidad a corto y largo plazo de las altas dosis del tratamiento de acondicionamiento (quimioterapia +/- radioterapia). Las consecuencias incluyen daño orgánico y riesgo de infecciones y hemorragia relacionado con la aplasia medular. Este periodo es generalmente breve dado que las células hematopoyéticas precedentemente criopreservadas son reinfundidas al finalizar el tratamiento de preparación. La recidiva sigue siendo el principal problema después del auto-TPH, aunque también las complicaciones tardías están progresivamente siendo reconocidas, por lo que es recomendable un largo follow-up.

En el trasplante alogénico los riesgos son diferentes, a pesar de usar métodos similares. En este caso predominan las consecuencias de un fenómeno inmuno-mediado y la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) en su forma aguda o crónica.

### 3.2.1 Complicaciones precoces

La **mucositis** es una de las más comunes complicaciones de los regímenes mieloablativos y del metotrexate (usado en la prevención de EICH). Causa dolor oro-faríngeo y a nivel intestinal náusea, diarrea y abdominalgia.

El segundo efecto adverso más común es un síndrome potencialmente letal caracterizado por hepatomegalia dolorosa, hiperbilirubinemia y retención hídrica, tradicionalmente denominado **enfermedad veno-oclusiva hepática** (veno-occlusive disease, VOD); aunque el término “síndrome sinusoidal obstructiva” (SOS) es más preciso <sup>86</sup> dado que el endotelio sinusoidal dañado se desprende y obstruye la circulación hepática, lesionando los hepatocitos centrolobulares. En las formas severas, puede haber fallo renal y respiratorio. La irradiación corporal total, el busulfan, la ciclofosfamida y otros agentes administrados en el

acondicionamiento, causan el síndrome de obstrucción sinusoidal, hecho que limita las dosis máximas. Factores de riesgo incluyen enfermedad hepática crónica y la presencia del alelo C282Y del gen HFE de la hemocromatosis.<sup>87</sup> Variantes comunes del gen glutathione-S-transferasa alteran el metabolismo de busulfan y ciclofosfamida y se asocian con una incidencia más alta de VOD después del uso de estos agentes.<sup>88</sup> La sustitución de ciclofosfamida con fludarabina<sup>89</sup> y el uso de regímenes de intensidad reducida<sup>90</sup> parecen relacionarse con una disminución del riesgo de VOD. Algunas enfermedades como la osteopetrosis se asocian a un riesgo más elevado de VOD.

El **daño pulmonar** relacionado con el trasplante puede ocurrir en los primeros cuatro meses después del procedimiento y la tasa de mortalidad supera el 60%. Factores de riesgo incluyen la TBI, el trasplante alogénico y la enfermedad de injerto contra huésped aguda, sugiriendo que linfocitos del donante atacan el tejido pulmonar.<sup>91</sup>

Las **infecciones** son una consecuencia del daño inducido por el tratamiento de acondicionamiento a nivel de boca, intestino y piel, así como de la presencia de catéteres, neutropenia e inmunodeficiencia. Los regímenes de intensidad reducida se han asociado con un porcentaje inferior de infecciones precoces respecto a los tratamientos mieloablativos, aunque el riesgo de infecciones tardías es similar. La neutropenia prolongada, la EICH y la administración de corticoides predisponen los pacientes a infecciones fúngicas, que representan una complicación de riesgo vital. La neumonía por citomegalovirus (CMV), un tiempo mortal en el 15% de receptores de Alo-TPH,<sup>92</sup> se ha convertido en una complicación rara después de la introducción de técnicas como la PCR (polymerase chain reaction) que detectan infecciones subclínicas de CMV y permiten un tratamiento precoz. Una mejor prevención y tratamiento de las infecciones relacionadas al trasplante han incrementado notablemente la supervivencia después del trasplante hematopoyético.

La **enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) aguda** es la complicación más importante del alo-TPH. Para su desarrollo se requiere que las células inmunocompetentes del injerto reconozcan proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) no expresadas en el donante. Normalmente la EICH aguda se desarrolla entre el día +10 y +30, típicamente coincidiendo con el implante mieloide. Los clásicos órganos diana de EICH aguda son la piel, el

tracto gastro-intestinal y el hígado. Las manifestaciones pueden variar desde un rash maculo-eritematoso a nivel de palmas, plantas y cara, a eritrodermia, formación de ampollas y epidermólisis; en caso de afectación del tracto gastro-intestinal aparecen náusea, vómitos, dolor abdominal y diarrea hasta formas severas de rectorragias o íleo paralítico; la implicación del hígado se manifestará con hiperbilirubinemia, ictericia, con o menos aumento de transaminasas. La EICH aguda se gradúa en base al número y a la severidad de los órganos implicados. La EICH y el tratamiento con corticoides pueden causar una profunda inmunodeficiencia, predisponiendo el paciente a infecciones graves. El sistema actual de gradación fue desarrollado en 1974 por Glucksberg y posteriormente modificado por Keystone en 1994.<sup>93</sup> La importancia de usar un sistema de graduación reside en la posibilidad de dividir los pacientes en categorías de riesgo por complicaciones y mortalidad.<sup>94</sup> (Tablas 2 y 3)

**Tabla 2** Estadios de severidad de la EICH aguda (clasificación de Glucksberg modificada)

	<b>Estadio 1</b>	<b>Estadio 2</b>	<b>Estadio 3</b>	<b>Estadio 4</b>
<b>PIEL</b>	Rash < 25 %	25-50 %	> 50% eritrodermia generalizada	+ ampollas y descamación
<b>INTESTINO (volumen deposicional)</b>	10-20 ml/Kg/día	20-30 ml/Kg/día	> 30ml/Kg/día	Importante abdominalgia +/- íleo, rectorragia o melenas
<b>Intestino alto</b>	Nausea y vómitos persistentes			
<b>HÍGADO (bilirubina)</b>	2-3mg/dl	3,1-6mg/dl	6,1-15mg/dl	>15mg/dl

**Tabla 3** Grados de severidad de EICH aguda (clasificación de Glucksberg modificada)

Grado	PIEL	HÍGADO	INTESTINO	INTESTINO ALTO
I	1-2	0	0	0
II	3	1	1	1
III	3	2-3	2-3	-
IV	4	4	3-4	-

El principal factor de riesgo para el desarrollo de EICH es la incompatibilidad HLA, aunque se puede observar hasta en un 60% de trasplante a partir de donantes HLA idénticos (a causa de las posibles discrepancias a nivel de antígenos menores de histocompatibilidad, mHA) y no obstante el tratamiento preventivo. En un amplio estudio de registro en alo-TPH de hermanos HLA idénticos (630 niños con leucemia) la incidencia de EICH grado II-IV y III-IV fue de 28 y 11% respectivamente.<sup>95</sup> Para trasplantes de donante no familiar, a mayor incompatibilidad HLA corresponde mayor riesgo de EICH y peor supervivencia. También la fuente de progenitores juega un papel importante y está bien aceptado que el uso de médula ósea o unidades de cordón umbilical se asocia a menor riesgo de EICH que el uso de sangre periférica movilizada.<sup>96</sup> Otros factores de riesgo incluyen: la edad (a mayor edad de receptor y donante mayor riesgo de EICH); la incompatibilidad de sexo (sobre todo donante femenina múltipara para receptor varón); la enfermedad maligna respecto a la no maligna; la irradiación corporal total;<sup>97</sup> la intensidad del régimen de acondicionamiento.<sup>98</sup> El número de linfocitos T administrados con el inoculo es un factor de riesgo así que el uso de tecnologías que permitan limitar el número, mediante la selección positiva ex-vivo de células CD34+, es una forma de profilaxis de EICH. Podemos también realizar una depleción in-vivo de linfocitos T mediante la administración pre-trasplante de anticuerpos monoclonales. Hay dos grandes estrategias: el uso de globulina anti-linfocítica (ATG) o el uso de alemtuzumab, un anticuerpo monoclonal frente al CD52. Naturalmente el pilar fundamental de la prevención de EICH se basa en el uso de fármacos

inmunosupresores post-trasplante. En general se asocian dos fármacos y hay varias combinaciones posibles que en general se eligen en base al tipo de trasplante (de donante familiar o no familiar y si se trata de un cordón umbilical). Habitualmente se combina un fármaco dirigido a evitar la activación del linfocito T con un fármaco que inhiba la respuesta proliferativa en los casos en que la activación se produzca.<sup>99</sup> A esta combinación se puede añadir una molécula dirigida a eliminar o reducir los linfocitos T. Hasta la fecha actual, los intentos de incrementar más la inmunosupresión no han dado resultados satisfactorios. La combinación clásica incluye un agente inhibidor de calcineurina (ciclosporina o tacrolimus) con otro agente, generalmente con capacidad anti-proliferativa (metotrexate [MTX], micofenolato mofetil [MMF]) aunque en los últimos años se ha introducido el sirólimus, un inhibidor de mTOR.

La decisión de iniciar el tratamiento se basa en la severidad de los síntomas, con un grado 1 cutáneo que puede, o no ser tratado vigilando estrechamente la evolución, o ser tratado únicamente con corticosteroides y tacrolimus tópicos o PUVA terapia. En caso de progresión en 3-4 días o ausencia de respuesta a los 7 días se iniciará tratamiento sistémico, que será asimismo el tratamiento de entrada en caso de EICH moderada o severa. El tratamiento estándar de primera línea son glucocorticoides y la pauta convencional es de 2mg/Kg/día. Los mayores inconvenientes de la terapia corticoidea prolongada son las complicaciones agudas y crónicas, en particular el aumento del riesgo de infecciones, osteopenia y necrosis avascular.<sup>100</sup> En caso de refractariedad o progresión de EICH durante la terapia corticoidea se iniciará una segunda línea de tratamiento. Más allá de la primera línea, no existe un tratamiento que pueda considerarse estándar. Los principales fármacos que se han usado como rescate en estudios pediátricos son: ATG, daclizumab, infliximab, pentostatina, sirolimus, anti-citoquinas (ej. inolimomab, etanercept).<sup>100</sup> Otras estrategias que se han ido incorporando en los últimos años se basan en la terapia celular, como la fotoaféresis extracorpore<sup>101</sup> y la infusión de células mesenquimales.<sup>102</sup>

### 3.2.2 Complicaciones tardías

---

Los receptores de un trasplante hematopoyético, tanto autólogo como alogénico, están a riesgo de presentar complicaciones tardías, requiriendo un seguimiento específico después de la exposición a los agentes tóxicos.

Los receptores de un alo-TPH, además, requieren una atención aún más exhaustiva a causa de las complicaciones relacionadas con la aparición de EICH crónica.

#### 3.2.2.1 EICH crónica

---

La EICH crónica es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad a largo plazo en los supervivientes de un alo-TPH y el mayor determinante de la calidad de vida de estos pacientes.

Se trata de una condición de inflamación crónica caracterizada por esclerosis cutánea y afectación multi-orgánica.<sup>103</sup> Clásicamente la definición de EICH crónica se basaba en el momento de aparición, habitualmente después del día +100. Actualmente se define en base a las características de presentación. Las manifestaciones clínicas son las típicas de las patologías autoinmunes, como por ejemplo esclerodermia cutánea, síndrome tipo Sjogren con sequedad ocular y bucal, hepatitis colestática, afectación pulmonar de tipo obstructivo que puede evolucionar hacia una bronquiolitis obliterante.

Factores de riesgo para su desarrollo incluyen: donante mujer para receptor varón, donante no familiar o con incompatibilidades HLA, alguna enfermedad de base (como leucemia mieloide crónica y aplasia medular), infusión de linfocitos del donante, uso de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica en vez que médula ósea, ausencia de depleción linfocitaria y EICH aguda grado II-IV.

Más controvertida es la influencia de otros factores que incluyen: seropositividad para CMV y reactivación de CMV, profilaxis de EICH aguda basada en corticoides, diferencias étnicas entre donante y receptor, elevado contenido de células CD34 en el inoculo y ausencia de metotrexate en los trasplantes a partir de sangre periférica. Por otro lado diversos estudios reportan una inferior incidencia de EICH crónica en los trasplantes de sangre de cordón umbilical.<sup>104</sup>

No obstante la EICH aguda sea un predictor para el posterior desarrollo de EICH crónica, los esfuerzos realizados para disminuir la EICH aguda no han tenido

como resultado una disminución de la forma crónica. Las dos excepciones incluyen el uso de depleción de linfocitos T y el uso de cordón umbilical como fuente de progenitores hematopoyéticos, dado que ambas estrategias se han asociado a una reducción de la incidencia de EICH aguda y crónica.<sup>105</sup>

Por otro lado, la EICH crónica se ha asociado a un riesgo inferior de recaída leucémica. No obstante, no se conocen aún bien los mecanismos a la base del efecto *injerto contra tumor* y si el efecto protector permanece después de la resolución de la EICH crónica. Se ha visto, también, que un aumento en la gravedad de EICH no se traduce en una disminución del riesgo de recaída.

El sistema de gradación de severidad más usado se basa en la clasificación “limitada/extensa” propuesta por el grupo de Seattle en 1980 basada en el análisis retrospectivo de 20 pacientes con EICH crónica. La afección cutánea localizada con o sin disfunción hepática (forma limitada) se asoció a formas menos graves y con menos infecciones. La afección cutánea generalizada o la forma limitada con la asociación de afección ocular, bucal, disfunción hepática con histología patológica, o la inclusión de cualquier otro órgano fueron clasificadas como enfermedad extensa y se asociaron a infecciones más frecuentes. Recientemente el Grupo de Consenso Internacional en EICHc ha propuesto un nuevo sistema de gradación, que se basa en distinción entre formas leves, moderadas y severas.<sup>106</sup> (Tabla 4)

**Tabla 4** Gradación actualizada de la EICH crónica propuesta por el Grupo de Consenso Internacional en EICH crónica

<b>Leve</b>	1 o 2 órganos (excepto pulmón) sin repercusión funcional significativa (puntuación máxima de 1 en todos los órganos afectados)
<b>Moderada</b>	Al menos 1 órgano afecto con repercusión clínica funcional pero no grave (puntuación máxima 2) o más de 3 órganos sin repercusión funcional significativa (puntuación máxima de 1 en todos los órganos afectados)
<b>Grave</b>	Indica limitación funcional grave (puntuación 3 en cualquier órgano). Una puntuación >2 pulmonar se considera grave

Las formas moderada y grave requieren tratamiento sistémico, mientras que las formas leves pueden recibir tratamiento local/tópico.

El tratamiento de primera línea se basará en inmunosupresores sistémicos (habitualmente PDN + CsA) en las formas extensas (moderada y grave) y en tratamiento tópico y de soporte, en las formas limitadas (leve).

Si no se ha producido respuesta tras un mínimo de 6 meses de tratamiento o la EICHc progresa tras un mes de tratamiento con PDN + CsA, se deberá añadir al tratamiento de primera línea MMF o rapamicina o bolus de metilprednisolona. Cada vez hay más experiencia también en el uso de fotoaféresis extracorpórea como tratamiento de segunda línea en EICHc.

Una de las manifestaciones principales asociadas a EICH crónica es la inmunodeficiencia, siendo las infecciones las principales causas de muerte en estos pacientes, por lo que es muy importante realizar una adecuada profilaxis infecciosa.

.La evolución de la EICH crónica es muy variable, con pacientes que pueden discontinuar el tratamiento inmunosupresor y otros que presentan manifestaciones severas y resistentes al tratamiento.

### 3.2.2.2 Déficit del crecimiento

El déficit del crecimiento es una complicación del trasplante hematopoyético típica de la edad pediátrica y el déficit de hormona del crecimiento es una endocrinopatía común en niños con cáncer. Se observa más frecuentemente después de irradiación a nivel del eje hipotálamo-hipofisario.<sup>107</sup> La irradiación usada como parte del acondicionamiento del trasplante daña los órganos neuroendocrinos que producen hormona del crecimiento, además de huesos y cartílagos.<sup>108</sup> El momento de aparición de déficit de hormona depende de la edad del niño en el momento de la irradiación, la dosis recibida y el tiempo transcurrido desde la irradiación.<sup>109</sup> La exposición a 30 Gy parece ser la dosis a partir de la cual el riesgo de déficit de hormona de crecimiento aumenta significativamente.<sup>110</sup> Un estudio de 90 niños con déficit de hormona de crecimiento evidenció que el tratamiento sustitutivo con la hormona era beneficioso en los niños que tenían menos de 10 años en el momento del trasplante.<sup>111</sup>

No obstante el potencial beneficio del tratamiento sustitutivo hay algún temor sobre su uso en niños con antecedente de cáncer a causa de un potencial aumento de riesgo de desarrollar neoplasias secundarias, como reportado en varios estudios.<sup>112,113,114,115</sup> En una primera publicación que reportó un aumento del riesgo de cáncer, 361 niños con antecedente oncológico y que habían sido tratados con hormona del crecimiento fueron comparados con los que no habían recibido el tratamiento sustitutivo: no se observó un aumento del riesgo de recurrencia de la neoplasia de base, mientras se observó un aumento del riesgo de desarrollar una segunda neoplasia sólida.<sup>112</sup> Aunque el estudio evidenció una potencial correlación, el número de segundas neoplasias fue limitado (20 en 361 pacientes); el riesgo relativo de desarrollar una neoplasia fue 2,1 y parecía disminuir con el tiempo. Todas las segundas neoplasias fueron de tipo sólido y de estas 9 fueron meningiomas.<sup>113</sup>

En general, el riesgo de desarrollar una segunda neoplasia después del tratamiento sustitutivo con hormona del crecimiento no queda claro y debería ser valorado junto con los beneficios que puede ofrecer.

### *3.2.2.3 Disfunción gonadal*

---

Los agentes alquilantes a dosis altas y la irradiación usados en el régimen de acondicionamiento afectan siempre la función ovárica y testicular. Cuando se habla de disfunción gonadal hay que considerar dos aspectos distintos: la producción hormonal y la fertilidad. Aunque fisiológicamente estas dos funciones están conjuntas en las mujeres, frecuentemente quedan separadas en los hombres en término de efectos del tratamiento.<sup>116</sup>

Los ovarios contienen aproximadamente 2 millones de folículos primordiales al nacimiento, sin capacidad de aumentar la reserva. Con la pérdida de folículos debido a la atresia, en el momento de la menarquia quedan aproximadamente 300.000 folículos. Cuando quedan solamente 1.000 folículos, aparece la menopausia (normalmente a la edad de 50 años en el mundo occidental).<sup>117,118,119</sup>

La irradiación y los agentes alquilantes a dosis altas producen una disminución de los folículos. Si, después de la exposición, quedan menos de 1.000 folículos, entonces aparece el fallo ovárico agudo, con síntomas clínicos de la

menopausia. Si quedan más de 1.000 folículos, puede reaparecer el normal ciclo menstrual, aunque es difícil establecer cuando los folículos disminuirán a menos de 1.000, con la aparición de una menopausia precoz.<sup>120</sup>

Han sido también reportados muchos casos de reaparición de la función ovárica después de un fallo inicial y el mecanismo no queda claro.<sup>121</sup>

El fallo ovárico y la menopausia precoz se manifiestan con altos niveles de hormona luteínica (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) con un descenso de los niveles de estrógenos más o menos simultáneo. Para estudiar la reserva ovárica puede ser de utilidad medir los niveles de hormona anti-mulleriana (AMH).<sup>122</sup> Clínicamente las niñas estarán a riesgo de padecer déficit precoz de densidad ósea,<sup>123</sup> fracturas óseas,<sup>124</sup> alteraciones lipídicas y enfermedades cardíacas isquémicas.<sup>125,126,127</sup> El tratamiento sustitutivo con estrógenos y la terapia con bifosfonatos <sup>128</sup> ayudan a reducir los síntomas relacionados con la insuficiencia ovárica y el riesgo de afectación cardíaca y ósea.

En término de fertilidad, las pacientes que mantienen la función reproductiva, presentan un alto riesgo de complicaciones durante el embarazo, como parto prematuro (20% respecto al 6% de la población sana), bajo peso al nacimiento (23% respecto al 6% de la población sana), necesidad de cesárea (42% respecto al 16% en la población sana).<sup>129</sup> Por otro lado, la tasa de anomalías congénitas y neoplasias no parece aumentar.<sup>130, 131</sup>

En los varones el tratamiento de acondicionamiento afecta de forma diferente a la función gonadal (producción de testosterona) y a la fertilidad (producción espermática). Muchos pacientes que reciben en edad pre-puberal un acondicionamiento basado únicamente en quimioterapia experimentan una pubertad normal y mantienen niveles de testosterona dentro del rango normal.<sup>132</sup> Por otro lado, la función gonadal puede verse afectada: en un estudio el hipogonadismo hipogonadotrofo se observó en el 19% de 31 pacientes varones sometidos a quimioterapia como parte del régimen de acondicionamiento, aunque todos los pacientes recuperaron una normal función gonadal a los 3 años de seguimiento.<sup>133</sup> La fertilidad es frecuentemente comprometida. En un estudio prospectivo de 64 varones sometidos a trasplante con diferentes acondicionamientos, la tasa de azoospermia fue de 70%. La recuperación de la producción espermática se observó en 90% de pacientes que habían recibido sólo ciclofosfamida, 50% de pacientes acondicionados con ciclofosfamida y

busulfan y 19% de aquellos que recibieron ciclofosfamida y TBI.<sup>134</sup> No se observó un aumento de la incidencia de anomalías congénitas en la proge.

<sup>134,135</sup>

#### 3.2.2.4 *Disfunción tiroidea*

---

La disfunción tiroidea es una complicación tardía frecuente. En un estudio de 791 niños sometidos a trasplante hematopoyético con diferentes acondicionamientos y afectos de diferentes enfermedades, el 30% desarrolló hipotiroidismo y un 20% requirió terapia hormonal sustitutiva.<sup>136</sup> Los factores de riesgo más importantes asociados a la disfunción tiroidea fueron el régimen de acondicionamiento, la edad al trasplante y el tipo de enfermedad. El uso de busulfan y TBI, la edad inferior a 10 años y el diagnóstico de linfoma de Hodgkin fueron los principales factores. El pico de disfunción tiroidea se verifica normalmente a los 5 años después de la irradiación aunque puede ocurrir también antes o después.

Además de la disfunción endocrina, los supervivientes de un TPH pueden presentar un riesgo aumentado de segundas neoplasias tiroideas. Un amplio estudio retrospectivo de 70.859 pacientes evidenció un aumento del riesgo de 3,26. Los pacientes que recibieron el trasplante a una edad inferior a 10 años presentaban mayor riesgo, con un riesgo relativo de 24,61; además las mujeres tenían un riesgo mayor que los hombres (riesgo relativo de 2,79).<sup>137</sup>

#### 3.2.2.5 *Disfunción pulmonar*

---

Una afectación pulmonar clínicamente significativa no es muy frecuente en pacientes sometidos a trasplante hematopoyético en edad pediátrica, pero hasta 35-55% puede presentar resultados de función pulmonar anormales.<sup>138,139,140</sup>

En particular, la TBI se relaciona con complicaciones pulmonares tardías. Un estudio retrospectivo en niños que recibieron TBI durante el acondicionamiento evidenció que el 74% presentaban un resultado de espirometría anormal tres años después del trasplante.<sup>141</sup>

Las complicaciones pulmonares tardías en niños sometidos a TPH se pueden dividir en 2 categorías: complicaciones pulmonares infecciosas y complicaciones pulmonares no infecciosas. Para las complicaciones infecciosas el riesgo se relaciona con el tratamiento de inmunosupresión: a más inmunosupresión mayor

riesgo de infecciones pulmonares, que pueden ser de origen bacteriana, fúngica y viral.<sup>142</sup>

Las complicaciones no infecciosas incluyen varias entidades patológicas que se manifiestan aproximadamente a partir de los 100 días después del trasplante: bronquiolitis obliterante, bronquiolitis obliterante con neumonía organizativa, y neumonía idiopática o neumonitis intersticial. Su incidencia es del 10-25% sobre todo en pacientes adultos.<sup>143,144</sup>

Un estudio pediátrico sobre 97 pacientes evidenció una incidencia de 10,3%. La análisis multivariante en este estudio mostró que la EICH crónica y la enfermedad de base de alto riesgo eran factores de riesgo significativos.<sup>145</sup>

La sintomatología incluye tos, sibilancias, infecciones recurrentes. La mortalidad es alta.<sup>146</sup> Una radiografía de tórax y la tomografía computerizada evidencian la presencia de infiltrados aunque el diagnóstico definitivo requiere broncoscopia y biopsia.<sup>147</sup> La patogénesis de las complicaciones pulmonares tardías no infecciosas no ha sido bien identificada, aunque la asociación la EICH crónica suporta la teoría que reacciones de aloinmunidad juegan un papel importante.<sup>148,149</sup> El tratamiento se basa principalmente en inmunosupresores, como micofenolato, azatioprina, corticosteroides, y un tratamiento adecuado de las infecciones.<sup>150</sup> Nuevas estrategias se basan en inmunomoduladores (ej. infliximab) aunque hay pocos estudios disponibles en niños.<sup>151</sup>

### 3.2.2.6 Disfunción cardíaca

La toxicidad cardíaca después del trasplante hematopoyético se puede manifestar en dos formas: estructural (ej. anomalías valvulares o enfermedad coronaria) o funcional (ej. cardiomiopatías). Los riesgos mayores derivan del tratamiento recibido antes del trasplante,<sup>152</sup> en particular el tratamiento con antraciclinas a dosis superior a 300mg/m<sup>2</sup>,<sup>153,154,155</sup> ciclofosfamida a dosis mayores de 150mg/Kg, la irradiación torácica y la TBI.<sup>156</sup> El riesgo de desarrollar un problema cardíaco aumenta con los años.

El análisis prospectivo de 162 niños sometidos a TPH evidenció una incidencia acumulada de disfunción cardíaca (fracción de eyección reducida) del 26% a 5 años. La TBI sólo o combinada con antraciclinas previas al trasplante eran factores de riesgo significativos.<sup>157</sup> En otro estudio de 112 niños la incidencia

acumulada de complicaciones cardiovasculares a 10 años fue de 11%. Las complicaciones incluían resultados ecocardiográficos anómalos, hipertensión y problemas cerebrovasculares.<sup>158</sup>

La disfunción cardíaca puede no manifestarse en los exámenes convencionales. Un estudio sobre la capacidad cardíaca durante el ejercicio evidenció una disminución significativa de la función cardíaca durante una ecocardiografía bajo esfuerzo en el 50% de pacientes pediátricos después de 7 años del trasplante.<sup>159</sup> Sólo el 10% de los pacientes habían manifestado anomalías en la ecocardiografía en reposo, y ninguno había presentado anomalías en el electrocardiograma.

Los cambios hormonales como consecuencia de la disfunción gonadal pueden predisponer a problemas cardíacos. La menopausia precoz se ha asociado a un aumento de mortalidad relacionado con enfermedad cardíaca isquémica.<sup>125,126,127</sup> La irradiación que implique la zona cardíaca aumenta el riesgo de enfermedad coronaria en edad joven,<sup>156</sup> y el déficit de estrógenos puede acelerar el proceso.

#### *3.2.2.7 Disfunción renal*

---

Una disfunción renal significativa no es una complicación frecuente en niños sometido a TPH, pero un estudio retrospectivo de 121 pacientes evidenció en un 24% de casos una disminución del filtrado glomerular.<sup>160</sup> No obstante esta prevalencia alta, sólo el 4% presentaban una afectación renal severa con un filtrado glomerular inferior a 70ml/min/1.73m<sup>2</sup>. El problema renal se puede manifestar en dos formas: de manera insidiosa, con un empeoramiento de la función renal como consecuencia de la exposición a fármacos nefrotóxicos (ej. agentes alquilantes, aminoglicosidos y antifúngicos) e irradiación, por infecciones, o como expresión de EICH<sup>161</sup>; o de forma aguda, en el contexto de anemia microangiopática.<sup>162,163</sup>

#### *3.2.2.8 Disfunción digestiva*

---

Las complicaciones digestivas a largo plazo incluyen las disfunciones intestinales como consecuencia de la EICH, la disfunción hepática como secuela de un daño hepático agudo (ej. después del síndrome veno-oclusivo o EICH aguda), o una afectación hepática tardía secundaria a infección viral o

sobrecarga férrica. Aunque actualmente se ha reducido drásticamente, hay un riesgo de hepatitis crónica por virus B o C adquirida a partir de las transfusiones o a partir del injerto en pacientes que fueron expuestos antes de la introducción de las técnicas de screening.<sup>164</sup>

La sobrecarga férrica pre-trasplante se ha asociado con una mayor mortalidad relacionada con el procedimiento del trasplante y mayor riesgo de VOD.<sup>165</sup> La sobrecarga de hierro puede empeorar el curso natural de una hepatitis crónica y contribuir al desarrollo de fibrosis hepática, cirrosis y hepatocarcinoma, como también de disfunción cardíaca. Por último la sobrecarga férrica aumenta también el riesgo de infecciones oportunistas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.<sup>166</sup>

#### 3.2.2.9 Complicaciones oculares

Los defectos de la agudeza visual son muy frecuentes en niños sometidos a TPH. En un estudio de 100 niños a 5 años del trasplante alrededor de un tercio presentaba algún defecto de la visión.<sup>167</sup>

Pueden ocurrir complicaciones de la cámara ocular anterior y posterior. Complicaciones del segmento posterior incluyen retinopatía microvascular (relacionada con TBI y CsA), edema del disco óptico, complicaciones hemorrágicas y retinitis infecciosas. La retinopatía isquémica ha sido reportada en pacientes acondicionados con busulfan y ciclofosfamida, sin irradiación, aunque probablemente el desarrollo de lesiones isquémicas es un proceso multifactorial que lleva a un daño capilar del fondo ocular.

Las dos principales complicaciones tardías del segmento ocular anterior son la aparición de cataratas y el síndrome de keratoconjuntivitis sicca. Las cataratas son las complicaciones oculares más frecuentes en niños después del TPH. El uso de TBI (particularmente en una única fracción),<sup>168</sup> la EICH y el uso de esteroides durante más de 3 meses, son los principales factores de riesgo para la aparición de cataratas. La kerotoconjuntivitis sicca es una manifestación de EICH crónica y es parte de un síndrome más amplio que incluye xerostomía, vaginitis, sequedad cutánea, aunque a veces puede aparecer también sin EICH.<sup>169</sup>

### 3.2.2.10 *Complicaciones esqueléticas*

---

Pérdida ósea y osteoporosis son complicaciones que pueden aparecer a largo plazo en los receptores de un TPH, como efecto tóxico de quimio- y radioterapia y del hipogonadismo. En el alo-TPH las dosis cumulativas y la duración del tratamiento con glucocorticoides, ciclosporina o tacrolimus, están asociados de forma significativa con la pérdida de densidad ósea, siendo responsable de las fracturas no-traumáticas que se observan en el 10% de los pacientes.<sup>170</sup> La incidencia de necrosis ósea avascular varía entre 5% y 15% y se diagnostica mediamente 18 meses después del alo-TPH. Factores de riesgos son principalmente el uso de glucocorticoides y TBI.<sup>171</sup>

### 3.2.2.11 *Complicaciones auditivas*

---

Los pacientes que recibieron irradiación a nivel de los oídos (incluida la TBI), o aquellos que recibieron acondicionamiento basado en medicamentos como cisplatino, carboplatino o tiotepa, y aquellos sometidos a tratamiento con aminoglucosidos, presentan un aumentado riesgo de pérdida auditiva. Se trata normalmente de pérdida neurosensorial, afectando las frecuencias altas. Un estudio de 235 niños y adolescentes reportó una incidencia de déficit auditivo en el 2-3% de pacientes a los 11 años después del trasplante.<sup>172</sup>

### 3.2.2.12 *Complicaciones dentales*

---

Los regímenes de acondicionamiento pueden causar un daño severo en el desarrollo dental. Se han observado hipoplasia, microdoncia, reducción de las raíces, y un aumento de las caries. En un estudio de 27 pacientes pediátricos se evidenció un aumento significativo de retraso en el crecimiento radicular en los niños sometidos a trasplante hematopoyético, con un aumento del riesgo de pérdida de piezas dentales.<sup>173,174,175</sup>



## 4 SEGUNDAS NEOPLASIAS

### 4.1 Predisposición al cáncer

Actualmente se estima que entre 1% y 10% de los cánceres infantiles se deben a una predisposición genética. En las últimas 3 décadas se ha producido un incremento significativo en el conocimiento en este campo y se ha descubierto que las mutaciones en las líneas germinales de numerosos genes aumentan de forma importante el riesgo de cáncer en niños.

La era moderna de la genética en oncología se inauguró en 1971 por Knudson que postuló la existencia de dos eventos mutacionales para explicar cánceres hereditarios y creando un modelo matemático para explicar la inactivación bialélica de los genes supresores del tumor, siendo la primera mutación heredada y la segunda manifestándose de forma somática para iniciar el proceso de génesis tumoral.<sup>176</sup> Knudson estudió cánceres infantiles raros para desarrollar su modelo inicial que demostró ser muy preciso en tumores hereditarios de manifestación en edad pediátrica y adulta.

En el 1986 se identificaron las dos mutaciones de pérdida de función del gen RB1 que causa el retinoblastoma hereditario.<sup>177</sup> Desde entonces se han identificado más de 100 genes relacionados con la predisposición al cáncer<sup>178</sup> y los estudios sobre el genoma humano han permitido aumentar de forma exponencial el conocimiento de la influencia de variaciones en el ADN en la susceptibilidad tumoral.<sup>179</sup>

Zhang y colegas han reportado recientemente los resultados de la secuenciación constitucional de ADN de 1120 niños afectados de varios tumores malignos.<sup>180</sup> Los investigadores vieron que el 8,5% de los pacientes presentaban mutaciones en genes relacionados con predisposición al cáncer, un porcentaje similar al 10% reportado en otro estudio que usó la secuenciación del exoma para evaluar 102 niños con cáncer.<sup>181</sup> Es interesante que ocho pacientes presentaban mutaciones heterocigotas en los genes BRCA1, BRCA2 o PALB2, que normalmente no son estudiados en niños dado que se asocian prevalentemente con cánceres en adultos. Precedentemente también Magnusson<sup>182</sup> y Brooks<sup>183</sup> describieron una

alta prevalencia de neoplasias infantiles en familias con mutaciones de BRCA1 o BRCA2. Estos estudios sugieren que las mutaciones en BRCA1 y BRCA2 serían mucho más comunes en cánceres pediátricos de cuanto haya sido reconocido anteriormente y que potencialmente pueden estar a la base de un amplio espectro de neoplasias. Otro aspecto interesante del estudio de Zhang es la observación que sólo el 40% de los pacientes con mutaciones germinales patógenas, o potencialmente tales, presentaban una historia familiar de cánceres.

#### 4.1.1 Predisposición a neoplasias hematológicas

La leucemia aguda es la neoplasia más frecuente en la infancia, siendo responsable de más de un tercio de los tumores de nuevo diagnóstico en niños y adolescentes. No obstante su alta frecuencia, sólo un número limitado de leucemias en edad pediátrica son de origen familiar o se verifican en el contexto de síndromes hereditarios de predisposición al cáncer.<sup>184</sup>

Desde hace años se estudia la epidemiología de la genética en la leucemia infantil, con una creciente evidencia de la influencia de factores genéticos (o hereditarios) en el riesgo de desarrollar este tipo de neoplasia. Los estudios más recientes en leucemia linfoblástica aguda (LAL) se basan en los polimorfismos de nucleótidos únicos (single nucleotide polymorphism, SNP) y entran en las categorías de genes implicados en transporte/metabolismo de folato (ej. MTHFR C677T), transporte/metabolismo de xenobioticos (ej. CYP1A1 TP235C, delección GSTM1, NAT2\*5), función inmune (ej. HLA-DRB4), reparación de ADN (ej. XRCC1 G28152A) y ciclo celular.<sup>185,186</sup> Más recientemente, se ha investigado el riesgo de leucemia a través del estudio de todo el genoma (genome-wide association studies, GWAS) a través de *microarrays* de SNP. Se han identificado SNPs en los siguientes genes asociados a la regulación del crecimiento, hematopoyesis y desarrollo linfocitario: IKZF1 (7p12.2), CDKN2A (9p21.3), ARID5B (10q21.2), y CEBPE (14q11.2).<sup>187,188,189</sup> El estudio de GWAS en poblaciones multiétnicas ha demostrado nuevas variantes de susceptibilidad en el locus BMI1-PIP4K2A (10p12.31-12.2).<sup>190</sup> Estos polimorfismos genéticos se relacionan con un aumento de 3 veces del riesgo de leucemia,<sup>191</sup> sugiriendo que

factores genéticos heredados pueden contribuir de forma importante en el desarrollo de LAL infantil.<sup>192</sup> No obstante, estos polimorfismos representan sólo el 8% de la variabilidad genética en LAL y seguramente se descubrirán otras variantes genéticas de susceptibilidad.

La leucemia aguda se puede desarrollar en el contexto de síndromes de cáncer hereditario, que se pueden dividir en seis grupos principales.

### **1) Síndromes de inestabilidad genética/déficit de reparación de ADN**

Los pacientes con Síndrome de Li-Fraumeni desarrollan múltiples tumores, incluyendo en 1-3% de casos leucemia aguda o síndrome mielodisplásico (SMD). Se ha visto una fuerte asociación entre LAL y las mutaciones germinales en TP53.

La Anemia de Fanconi es una enfermedad autosómica recesiva que conlleva a múltiples roturas en las cadenas de ADN a causa de defectos en el proceso de reparación. Las características principales de la enfermedad consisten en fallo medular, características físicas distintivas, déficit del crecimiento, y un riesgo aumentado de tumores sólidos y leucemia aguda mieloblástica (LAM). El fallo medular se verifica frecuentemente entre los 5 y 15 años, más de un tercio desarrollarán leucemia desde los 30 años y casi la mitad presentarán un síndrome mielodisplásico a partir de los 50 años.<sup>193,194</sup> Dada la alta sensibilidad a los agentes que producen daño a nivel de ADN, incluida la irradiación, el tratamiento de las neoplasias relacionadas se ve complicado por una alta tasa de tumores secundarios.

La Ataxia teleangiectasia (A-T) es causada por mutaciones autosómicas recesivas que causan un déficit en la reparación de ADN que se manifiesta con ataxia progresiva, degeneración del sistema nervioso central, teleangiectasias oculares y faciales, inmunodeficiencia y un riesgo aumentado para cánceres (10 a 38 % de riesgo).<sup>195</sup> Los pacientes con A-T presentan un riesgo 70 veces superior de desarrollar una LAL y un riesgo hasta 5 veces mayor de presentar una neoplasia linfóide de células T. Como en el caso de la anemia de Fanconi, también estos pacientes tienen una aumentada sensibilidad a las radiaciones ionizantes y requieren tratamientos adaptados para reducir el riesgo de segundas neoplasias.

**2) Síndromes de disfunción del ciclo celular/diferenciación**

Se trata de enfermedades autosómicas dominantes que se caracterizan por déficit en la vía de señal RAS, con un aumentado riesgo de leucemias y rasgos físicos característicos. Los pacientes con neurofibromatosis-1 (NF1) presentan un riesgo de 200 a 500 veces más alto de presentar una leucemia mielomonocítica juvenil (LMMCJ) y el 10-14% de niños con LMMCJ están diagnosticados de NF1.<sup>196</sup>

**3) Síndromes de fallo medular**

Se incluyen en este grupo la anemia de Blackfan-Diamond, el síndrome de Scwachman-Diamond, la trombocitopenia congénita amegacariocítica, el síndrome de trombocitopenia y ausencia de radio y el síndrome de neutropenia congénita severa (Kostmann). Estos síndromes se asocian con aparición de diferentes tipos de leucemias aunque las más frecuentes son la LAM y el SMD (aumento del riesgo del 5% al 25%).<sup>197,198,199,200</sup>

**4) Síndromes de déficit del mantenimiento telomérico/  
Inmunodeficiencias**

La disqueratosis congénita es una enfermedad rara y se asocia con aumentado riesgo de tumores sólido y leucemias (LAM y SMD).

Entre las inmunodeficiencias, el síndrome de Wiskott-Aldrich y la agamaglobulinemia de Bruton se asocian con un aumento del riesgo de LAL.

**5) Síndromes de factores de transcripción/leucemia familiar**

Se trata de síndromes raros causados por mutaciones en los genes que codifican por los factores de transcripción hematopoyéticos. Los síndromes PAX5 y SH2B3 son los síndromes de leucemia familiar por alteración de un único gen de más reciente descubrimiento.<sup>201,202,203</sup>

**6) Síndromes congénitos/aneuplodías**

La trisomía 21 (síndrome Down) se relaciona con un riesgo muy elevado de leucemia infantil, de 10 a 20 veces para LAL o LAM y hasta 500 veces superior para la leucemia aguda megacarioblástica.<sup>204,205</sup>

## 4.2 Segundas neoplasias en pacientes oncológicos

Las segundas neoplasias representan la principal causa de muerte relacionada con el tratamiento en los pacientes que presentaron una enfermedad oncológica en edad pediátrica. En la mayoría de los casos la nueva neoplasia está asociada al tratamiento recibido, como la radioterapia o la quimioterapia basada en agentes alquilantes. Una predisposición genética puede también contribuir al aumentar el riesgo de nuevos cánceres.

En general los supervivientes de un cáncer infantil presentan de 3 a 6 veces más riesgo de desarrollar una segunda neoplasia respecto a la población general de la misma edad.<sup>206,207,208,209</sup> A 20 años después del diagnóstico de base, la incidencia acumulada de segundos tumores en los supervivientes de un cáncer infantil es estimada entre 3,2% y 4,2%. En un estudio inglés, el 5% de los supervivientes habían desarrollado un segundo cáncer a 38 años; esta incidencia acumulada tendría que presentarse a los 54 años en un grupo poblacional comparable, sin antecedentes oncológicos.<sup>206</sup>

Factores clínicos y demográficos que aumentan el riesgo de segunda neoplasia incluyen: diagnóstico primario, exposición a radioterapia, quimioterapia con agentes alquilantes, edad al diagnóstico. Los diagnósticos que confieren más riesgo de segundo tumor incluyen el linfoma de Hodgkin, el sarcoma de Ewing y el retinoblastoma.<sup>209</sup>

La predisposición genética para segundas neoplasias es el resultado de mutaciones germinales espontáneas o heredadas a nivel de un gen con una susceptibilidad oncogénica conocida o presunta. Características típicas de los síndromes de predisposición genética al cáncer incluyen la edad temprana al diagnóstico, presentación de tumores en dos o más generaciones, dos o más cánceres en el mismo individuo, y formas raras de cáncer en combinación.<sup>210,211</sup> Individuos con predisposición genética al cáncer presentan mayor riesgo de tumores relacionados con el tratamiento. Esto está demostrado en pacientes con retinoblastoma que presentan la mutación en el gen RB1. Los pacientes con retinoblastoma hereditario tratados con radioterapia presentan un riesgo acumulado de segundas neoplasias del 58% a 50 años, comparado al 26% de los pacientes no tratados con radioterapia.<sup>212</sup>

Hay otros síndromes genéticos menos frecuentes que se asocian a una aumentada susceptibilidad a neoplasias infantiles y segundos tumores normalmente típicos de la edad adulta, y hay evidencias que sugieren como un porcentaje importante de estos niños puede tener una predisposición genética que podría relacionarse con el riesgo de segundas neoplasias posteriores.<sup>213</sup> Los estudios genómicos de pacientes con o sin tumores secundarios pueden revelar los polimorfismos asociados a un aumento del riesgo. Un estudio de los supervivientes del linfoma de Hodgkin que recibieron irradiación ha identificado dos variantes genéticas en el locus 6q21 que se asocian a un aumentado riesgo de tumores.<sup>214</sup> Más estudios en este campo permitirán determinar qué tipo de pacientes deberían ser sometidos a mayor vigilancia o profilaxis para segundos tumores.

#### **4.2.1 Segundas neoplasias post radioterapia**

---

Las primeras observaciones de los efectos a largo plazo de la irradiación se realizaron a partir de las bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki: los supervivientes evidenciaron un aumentado riesgo de desarrollar tumores respecto a la población que no había sido expuesta.<sup>215,216,217</sup> La incidencia de neoplasias disminuía aumentando la distancia desde el área de detonación con un claro aumento del riesgo al aumentar la dosis de irradiación.<sup>217</sup> Este aspecto de dosis-dependencia de algún tumor sólido se observa también en el caso de la radioterapia.

Las primeras aplicaciones clínicas de la radioterapia incluyeron numerosas condiciones benignas, reumatológicas, dermatológicas o infecciosas. Esto permitió observar los efectos oncogénicos de la irradiación dado que, a diferencia de los pacientes oncológicos, su supervivencia a largo plazo favorecía la larga latencia de los tumores radio-inducidos. Esta latencia, que es un aspecto típico de estos tumores, fue formalmente descrita por primera vez por Cahan y colegas en los años 40.<sup>218</sup> Este estudio describe una serie de pacientes que recibieron radioterapia a nivel de quistes óseos y después de una latencia de 5 o más años desarrollaron en la zona irradiada osteosarcomas. También Smith y Dolls en 1982 describieron como los pacientes que habían recibido dosis bajas

de radioterapia como tratamiento de la espondilitis anquilosante presentaban una aumentada mortalidad por leucemias.<sup>219</sup> El uso de radioterapia para la tiña capitis llevó a la irradiación de miles de niños que recibieron dosis bajas y directas a la superficie del cuero cabelludo.<sup>220</sup> Estos tratamientos usaban dosis de 1 hasta 6 Gy normalmente administradas en una sola fracción, resultando en una dosis mediana de 1,5 Gy a nivel cerebral.<sup>221</sup> El seguimiento a largo plazo reveló que estos tratamientos se asociaban con un aumento significativo de tumores de cabeza, cuello y sistema nervioso central. Los tumores cerebrales más frecuentes eran meningiomas y gliomas.<sup>221</sup> Análisis adicionales de esta cohorte de pacientes demostraron un aumento del riesgo para tumores del tejido conectivo y óseo, y de leucemias. La edad en el momento de la irradiación influía en el riesgo, con una disminución del riesgo en niños mayores de 10 años y el mayor riesgo para niños entre 5 y 9 años.<sup>220</sup>

La aparición de segundas neoplasias hizo que se abandonara el uso de la radioterapia para el tratamiento de enfermedades benignas.

Estas observaciones iniciales permitieron establecer algunos aspectos centrales en el proceso de oncogénesis por radioterapia: los tumores se pueden desarrollar después de dosis bajas de irradiación y el riesgo aumenta con la dosis; la latencia para la segunda neoplasia es generalmente de varios años y se puede mantener durante décadas; la edad joven en el momento de la exposición es un factor de riesgo para el segundo tumor.<sup>222</sup>

La irradiación craneal o cráneo-espinal ha sido durante mucho tiempo uno de los componentes principales del tratamiento de la leucemia aguda sobre todo para pacientes de alto riesgo. Además la irradiación corporal total (TBI) hacía parte de los protocolos de acondicionamiento estándar del trasplante hematopoyético, llevando a la irradiación de múltiples regiones anatómicas y diferentes tipos de tejidos. Dado que la supervivencia a largo plazo ha mejorado notablemente en los últimos años en este grupo de pacientes, ha sido posible estudiar los efectos tardíos de las terapias.



### 4.3 Segundas neoplasias sólidas post-TPH

Los tumores sólidos representan las neoplasias secundarias más frecuentes después del TPH. Varios estudios han evidenciado un aumento del riesgo en los supervivientes de un trasplante hematopoyético. Pocas series son exclusivamente de niños.

Uno de los primeros estudios publicados fue de Curtis et al <sup>223</sup> en 1997. En una larga serie de 19.229 pacientes se reportaron 80 nuevos casos de tumores sólidos con aumento de 29,8 veces del riesgo comparado con la población general ( $p < 0,001$ ). En esta serie la edad mediana al trasplante era de 25 años. El riesgo fue especialmente elevado para tumores de la cavidad bucal (ratio observados/esperados 11,1), hígado (7,5), sistema nervioso central (7,6), tiroides (6,6), hueso (13,4), tejido conectivo (8,0) y melanomas (5,0). El riesgo aumentaba con los años después del trasplante, siendo 8 veces más alto a 10 años post-TPH. La incidencia acumulada para segundas neoplasias sólidas fue 0,7% a 5 años, 2,2% a 10 años y 6,7% a 15 años post-TPH, siendo los valores correspondientes en la población general 0,3%, 0,6% y 0,8% respectivamente. En esta serie sólo 104 pacientes fueron seguidos durante más de 15 años. El riesgo de tumores de cavidad bucal, cerebro y tiroides era más elevado a 5 o más años post trasplante, mientras el riesgo de melanoma y tumores óseos o de tejido conectivo se mantuvo alto durante todo el seguimiento. De los 80 casos, 36 fallecieron y la segunda neoplasia fue la causa de muerte en 26 pacientes (10 con tumor cerebral). Se observó una fuerte relación entre la edad al trasplante y el riesgo de cáncer. El riesgo para niños de edad inferior a 10 años era 36,6 veces mayor que lo esperado; para pacientes de edad entre 10 y 29 años el riesgo era 4,6 veces más alto y era casi normal a lo esperado en quien recibió un trasplante en edad superior a 30 años. El riesgo principal en el grupo de niños era para tumores cerebrales (casos observados 9; esperados 0,22) y de tiroides (casos observados 4; esperados 0,02) habiendo ocurrido 9 de los 13 tumores en niños que habían recibido irradiación craneal antes del trasplante. Una vez excluidos los tumores cerebrales y tiroideos no se observó diferencia en la incidencia de tumores sólidos en los grupos de edad. En este estudio se observó

también una asociación entre el riesgo de tumores sólidos y la enfermedad de base, siendo el riesgo más alto en caso de leucemia aguda.

La irradiación resultó ser un importante factor de riesgo para segundo tumor sólido. En caso de irradiación de un campo delimitado el riesgo fue 18,4 veces más alto respecto a quien no había recibido irradiación. La TBI resultó doblar el riesgo de segundo tumor sólido sin pero evidenciarse diferencia significativa entre la administración en única dosis o en forma fraccionada, aunque el riesgo era más alto a medida que aumentaba la dosis de irradiación administrada para ambos grupos (dosis única o múltiples). En los pacientes que recibieron TBI con una dosis única de  $\geq 10$  Gy o dosis fraccionadas  $\geq 13$  Gy, el riesgo fue tres o cuatro veces superior a quien no había recibido TBI.

La enfermedad de injerto contra huésped crónica se asoció a un aumento significativo del riesgo de carcinomas escamosos de la cavidad bucal y piel. De los 16 casos de tumores escamosos en pacientes con EICH crónica, 11 se presentaron en quien había recibido una inmunosupresión durante dos o más años.

La depleción de linfocitos T se asoció con un riesgo relativo de melanoma invasivo de 4,5. El uso de inmunosupresores como profilaxis de EICH y la quimioterapia usada en el régimen de acondicionamiento no se asociaron a un aumento del riesgo.

Previamente, ya en 1992, Socié <sup>224</sup> había evidenciado, en una serie de 107 pacientes con aplasia medular adquirida y 40 pacientes con Anemia de Fanconi, el aumento de riesgo de segundos tumores sólidos. Todos los pacientes habían sido sometidos a alo-TPH de hermano HLA idéntico con acondicionamiento basado en cilcofosfamida e irradiación toraco-abdominal (6 Gy en aplasia y 5 Gy en A. Fanconi). Se observó una incidencia acumulada de tumores sólidos de 22% a 8 años. Los autores concluyeron que, visto el aumento de riesgo respecto a la población general (riesgo relativo de 51) la radioterapia debería ser evitada para los pacientes con aplasia medular, también porque su uso no demostró una mejora en la supervivencia en esta población de pacientes según los resultados del registro internacional de trasplantes IBMTR.

El mismo año Whitterspoon<sup>225</sup> publicó una serie de 330 pacientes con aplasia medular (318 aplasia adquirida, 12 Fanconi). El acondicionamiento se basó sólo

en quimioterapia (ciclofosfamida 200mg/kg +/- asociada a ATG u otros agentes como busulfan o procarbazona). Se observaron 5 casos de tumores sólidos secundarios (todos escamosos). La incidencia acumulada fue mucho inferior de la reportada por Socié,<sup>224</sup> siendo a 5 años de 0,4%, a 10 años de 1,4% y a 15 años de 4,2%. Se observó además que, de los cinco pacientes que desarrollaron el tumor sólido, dos presentaban una historia de factores de riesgo cancerígenos: un paciente con historia de tabaquismo y alcoholismo, y un paciente con anemia de Fanconi que se relaciona con un aumento del riesgo de segundas neoplasias respecto a la población general. Cuatro pacientes habían sido tratados con ATG por EICH aguda, que había sido asociada, en un estudio de 2.246 pacientes, a un mayor riesgo de tumores sólidos.<sup>226</sup> Los 5 pacientes que desarrollaron el tumor presentaban EICH crónica y habían recibido prednisona y azatioprina durante un largo periodo, aunque no se pudo demostrar relación estadísticamente significativa, ni en esta serie ni en la anterior.

El grupo estadounidense de Bathia<sup>227</sup> estudió la evolución a largo plazo de 2.129 pacientes (adultos y niños; edad entre 1,5 y 71,5 años; mediana 33,9 años) después del trasplante hematopoyético. Se registraron 29 casos de tumores sólidos malignos comparados con los 9,4 esperados en la población general (ratio O/E 2,1). El riesgo fue particularmente elevado para cáncer hepático (27,7), cérvix (13,3) y cavidad oral/faringe (17,4). EL riesgo absoluto, para todos los tumores, fue 17,6 casos por 10.000 pacientes/año. La incidencia acumulada de nuevos tumores sólidos a 5 y 10 años post TPH fue 1,6% y 6,1% respectivamente. Se observó un drástico aumento del riesgo con los años, llegando a ser de 14,9% a 15 años, confirmando el largo periodo de latencia de estos tipos de tumores. Se observó una diferencia en el riesgo según el tipo de trasplante: la incidencia a 10 años fue 6,4% para alo-TPH y 1,6% en caso de auto-TPH. Entre los 759 pacientes que recibieron un auto-TPH sólo 2 desarrollaron un segundo tumor sólido (cérvix y mama). El riesgo variaba según la enfermedad de base siendo mayor en casos de leucemia mieloide aguda y crónica. También en este estudio se observó que los pacientes más jóvenes al trasplante (<34 años) presentaban un riesgo 5,3 veces superior que la población general. Se describió una asociación significativa entre el sexo del paciente y algún tipo de tumor, como tiroideo (en mujeres) o de cavidad oral (en hombres).

El riesgo de tumores sólidos (sobre todo de tiroides, hígado, glándulas salivares y cavidad oral) fue más alto en pacientes que recibieron TBI, aunque con el análisis multivariante no se demostró asociación estadísticamente significativa entre irradiación pre-TPH y segundos tumores sólidos ( $p=0,1$ ). Tampoco la quimioterapia previa y la presencia de EICH aguda o crónica resultaron ser factores de riesgo con significación estadística mediante análisis multivariante, aunque los seis pacientes que desarrollaron carcinoma escamoso de piel y cavidad bucal y el paciente con carcinoma escamoso de esófago, descritos en el estudio, habían presentado EICH crónica.

En Europa el grupo EBMT publicó en 1999 los resultados en 1036 pacientes con más de 5 años de seguimiento, siendo la incidencia acumulada de segundas neoplasias sólidas de 3,5% a 10 años y 12,8% a 15 años. En este estudio la edad más avanzada y el tratamiento con ciclosporina por EICH crónica fueron importantes factores de riesgo.<sup>228</sup>

Baker<sup>229</sup> publicó en 2003 una serie de 3.372 pacientes (adultos y niños) sometidos a TPH (auto- y alo-). El riesgo de un segundo tumor sólido fue de 2,79 (IC 95%: 1,97-3,74) con un exceso de riesgo de 23,21 por 10.000 personas/año. El riesgo fue significativamente más alto para melanomas, tumores cerebrales y tumores de la cavidad oral. La población pediátrica presentó el riesgo mayor. Se observó que pacientes con edad inferior a 10 años en el momento del trasplante presentaban un riesgo acumulado 60 veces mayor de desarrollar una segunda neoplasia de cualquier tipo y que para tumores sólidos el riesgo era 33 veces más alto. La incidencia acumulada de tumores sólidos a 20 años post TPH fue 3,8% (IC 95%: 2,2%-5,4%). En total se observaron 62 tumores sólidos en 55 pacientes. En esta serie el único factor de riesgo (regresión de Cox) fue la edad < 20 años en el momento del TPH. No se observó un aumento del riesgo en pacientes que recibieron TBI, siendo este dato en contraste con otros estudios en que el uso<sup>230</sup> y la dosis de radioterapia<sup>223</sup> en el régimen de acondicionamiento se relacionaron con un aumento del riesgo. El 42% de los pacientes que desarrollaron la segunda neoplasia sólida fallecieron debido a esta causa.

La observación reportada en varias series<sup>231,228,232,233</sup> que la EICH crónica se asocia a un aumento del riesgo de segundos tumores escamoso de piel y

cavidad oral, fue estudiada por Curtis en 2005.<sup>234</sup> Se trata de un estudio caso-control sobre una cohorte de 24.011 pacientes (edad mediana al TPH 26,5 años; rango 3,5-61,3 años). La incidencia acumulada de tumores escamoso invasivos fue 1,1% a 20 años. La enfermedades de base en los 58 pacientes que desarrollaron la segunda neoplasia fue prevalentemente leucemia y aplasia medular. Los factores de riesgo principales fueron la durada de la inmunosupresión para el tratamiento de la EICH crónica, en particular si incluía azatioprina, y la gravedad de la EICH. Estos factores no influían en el desarrollo de segundas neoplasias no escamosas, como reportado en previos estudios,<sup>223</sup> siendo consistente con la hipótesis que diferentes mecanismos están a la base de diferentes tumores sólidos.

Se podría especular, según los autores, que la inmunosupresión administrada en un contexto de inflamación, tal como se verifica en la EICH crónica, podría interferir en la reparación tisular, incrementando el riesgo de desarrollo tumoral. Este riesgo sería mayor si las terapias inmunosupresoras son de larga durada, como se ha reportado en receptores de trasplantes de órganos sólidos; además en caso de uso de azatioprina, un agente con un conocido potencial carcinógeno, no debería sorprender el aumento del riesgo de tumores sólidos. De hecho, esta asociación se había reportado previamente en alguna serie en pacientes con aplasia medular sometidos a TPH.<sup>232,235</sup>

En 2008 Rizzo publicó un amplio estudio multicéntrico incluyendo más de 271 centros internacionales (estudio CIBMTR).<sup>236</sup> En total se estudiaron 28.874 pacientes que fueron sometidos a un alo-TPH. Se excluyeron del análisis estadístico los pacientes con Anemia de Fanconi o Inmunodeficiencias primarias, dado el aumentado riesgo de segundas neoplasias en estas enfermedades. El seguimiento fue superior a 5 años para 6641 pacientes, superior a 10 años en 1985 pacientes y superior a 15 años en 378 pacientes. La edad mediana al TPH fue 27 años, con un 58% de pacientes trasplantados a una edad inferior a 30 años. El motivo del trasplante fue en la mayoría de casos (74%) una leucemia aguda.

Se observaron 165 casos de nuevos tumores sólidos. La incidencia acumulada de segunda neoplasia maligna fue 1% a 10 años, 2,2% a 15 años y 3,3% a 20 años. Globalmente los receptores de alo-TPH presentaron un riesgo doble

respecto a la población general. La mayoría (27 de 40 casos) de los tumores sólidos de cerebro/SNC, tiroides, hueso y tejidos conectivos, se desarrollaron en pacientes trasplantados en edad pediátrica (<17 años).

La irradiación, como parte del régimen de acondicionamiento, demostró ser un importante factor de riesgo. Los niños irradiados a una edad menor de 10 años presentaron un riesgo 55 veces más alto de tumores sólidos. El riesgo seguía siendo elevado (4 a 6 veces mayor) en pacientes irradiados entre 10 y 29 años, mientras no se observó un exceso de riesgo en pacientes de edad mayor a 30 años. No hubo una clara evidencia de aumento del riesgo al aumentar la dosis de TBI. No se describió una relación estadísticamente significativa entre neoplasias sólidas y factores como desarrollo de EICH aguda, depleción de linfocitos T, quimioterapia de acondicionamiento o uso de donantes con más de una diferencia HLA. Los factores de riesgo variaron según el tipo de tumor. La irradiación (TBI o LFI) como parte de régimen previo al TPH fue un factor de riesgo clave sólo para tumores sólidos no escamosos (TBI: RR 2,29; LFI: RR 3,94), mientras el riesgo asociado con EICH crónica fue limitado a los tumores escamosos (RR 5,04). Se confirmó la asociación del riesgo más elevado de segundos tumores sólidos para pacientes con leucemia aguda respecto a pacientes con leucemia mieloide crónica (RR 0,56), aplasia medular (RR 0,83) u otras enfermedades primarias (RR 0,66).

En 2011 un estudio retrospectivo multicéntrico de Majhail et al <sup>237</sup> documentó la incidencia de tumores sólidos en pacientes (edad mediana 29 años; <1-60) que recibieron un alo-TPH acondicionado sin radioterapia, basado en busulfan-ciclofosfamida. La enfermedad de base era LAM y LMC. De los 4318 pacientes estudiados, 226 tenían menos de 10 años de edad y 300 tenían entre 10 y 19 años. La incidencia acumulada a 10 años de segundos tumores sólidos fue de 1,2 % para LAM y 2,4% para LMC, resultando similar a la incidencia reportada en el estudio CIBMTR de Rizzo et al <sup>236</sup> donde pero la TBI resultó ser un importante factor de riesgo. Por otro lado, el tipo de tumores sólidos reportado difiere: el uso de dosis mieloablativa de TBI se asocia especialmente con tumores de mama, tiroides y melanoma de piel,<sup>223,238,239</sup> asociación que no se reportó en el estudio de Majhail.<sup>237</sup> Por otro lado se vio que también los pacientes que recibieron BU-CFM presentaron un aumento del riesgo de

tumores cerebrales y de tejidos blandos, que han sido asociados también con TBI.<sup>236, 223</sup> Respecto a otros estudios, se observó un aumento del riesgo de tumores pulmonares. Muchos de estos pacientes tenían una historia de hábito al fumo. El busulfan puede causar daño y fibrosis pulmonar, aunque no ha sido asociado de por sí a cáncer de pulmón. Se podría pensar pero, en un efecto sinérgico del fumo y el acondicionamiento como causante de tumor pulmonar en esta población; ya otros estudios habían reportado que la exposición a agentes alquilantes en pacientes con linfoma de Hodgkin aumentaba el riesgo de cáncer pulmonar y el fumo incrementaba este riesgo.<sup>240</sup>

En 2012 se publicó un amplio estudio multicéntrico Japonés incluyendo 2062 pacientes (edad mediana 36 años; rango 7-68) sometidos a un alo-TPH.<sup>241</sup> Se observaron 30 casos de tumores sólidos después de una mediana de seguimiento de 5,6 años (rango 0,3-17,6 años), con una incidencia acumulada a 5, 10 y 15 años post-TPH de 0,9%, 2,4% y 3,7% respectivamente. El riesgo fue especialmente elevado para tumores de piel (tasa de incidencia estandarizada: 40,23), cavidad oral y faringe (35,25) y esófago (10,73); mientras que el riesgo de cáncer de estómago particularmente elevado en Japón no se vio aumentado respecto a la población general. En los análisis uni- y multivariante los únicos factores de riesgo independientes que se relacionaron con los segundos tumores fueron el linfoma como diagnóstico de base y la EICH crónica. La TBI no fue un factor de riesgo significativo en este estudio: según los autores esto podría ser debido al corto seguimiento en comparación con la larga latencia de los tumores radiogénicos. Una explicación del mayor riesgo de nuevos tumores en pacientes con linfoma podría consistir, según los autores, en el intenso tratamiento (quimioterapia, radioterapia) a que pueden haber sido sometidos estos pacientes; no obstante, no se pudo realizar un análisis de la contribución de estos factores.

Recientemente en 2013 un nuevo estudio Japonés ha descrito 11 casos de segundos tumores sólidos en 370 TPH (adultos y niños), con una incidencia acumulada a 10 años de 6,4%. Probablemente el número limitado de la muestra no permitió identificar factores de riesgo con significación estadística.<sup>242</sup>

En 2013 se ha publicado el estudio multicéntrico del grupo estadounidense CIBMTR para evaluar la incidencia de segundas neoplasias en niños sometidos a trasplante hematopoyético autólogo.<sup>243</sup> Las enfermedades de base en los 1487 pacientes estudiados eran: neuroblastoma (39%), linfoma (26%), sarcoma (18%), neoplasias de SNC (14%), tumor de Wilms (2%). El 19% de los niños habían recibido TBI como parte del acondicionamiento, un 3% irradiación de otro tipo (TLI o toraco-abdominal) y 68% etoposido. Un total de 39 pacientes recibieron un alo-TPH siguiente. Se observaron 35 casos de segunda neoplasia. La incidencia acumulada fue 1% y 2,6% a 5 y 10 años respectivamente. La mediana de tiempo desde el TPH a la aparición de la neoplasia secundaria fue 2 años para LAM/SMD, 6,3 años para los tumores de SNC, 7 años para tumores sólidos. El riesgo de desarrollar un segundo tumor fue 24 veces superior que en la población general, y aumentaba con el tiempo, sin alcanzar un plateau después de 10 años.

Los autores evidenciaron que una de las limitaciones del estudio consistía en no tener en cuenta de los tratamientos previos al trasplante. La mayoría de las segundas neoplasias ocurrieron en pacientes con sarcoma, neuroblastoma y linfoma, cuyo tratamiento se basaba en altas dosis de agentes alquilantes, inhibidores de topoisomerasa y radioterapia, agentes que se han asociado a un aumentado riesgo de tumores. Por lo que no se pudo cuantificar de cual forma los tratamientos previos pudieron contribuir en el riesgo de neoplasias post trasplante.

En los últimos años se han introducidos numerosos cambios en los régimen de acondicionamiento con el objetivo de reducir el riesgo de complicaciones tardías relacionado con TBI a dosis altas, mediante el uso de régimen de intensidad reducida. El impacto de estos cambios en el riesgo de segundas neoplasias está aún por definir. En 2006 Cavalier<sup>244</sup> reportó 6 casos de tumores secundarios cutáneos en pacientes con LAM/SMD sometidos a un acondicionamiento de intensidad reducida, con un tiempo de latencia entre 2 y 26 meses, evidenciando como el riesgo de tumores sólidos persiste con régimen no mieloablativo.

La exposición a múltiples factores antes y después del trasplante podría estar implicada en el riesgo de segundos tumores. En todas las series publicadas no ha sido posible determinar el impacto de la terapia anti-tumoral recibida antes del

trasplante respecto a específicos factores de riesgo relacionados con el trasplante dado que todos los estudios han usados como control a la población general y no a los supervivientes de un tratamiento anti-tumoral que no recibieron trasplante.<sup>245</sup>

En la tabla 5 se detallan los principales agentes que se han relacionados con segundas neoplasias.

**Tabla 5** Principales agentes relacionados con segundas neoplasias

<b>Tratamiento</b>	<b>Segunda neoplasia</b>	<b>Comentario</b>
<b>Agentes alquilantes</b> (busulfan, melfalan, carmustina, lomustina, procarbazona, ciclofosfamida, ifosfamida, dacarbazina)	Leucemia, mielodisplasia	El melfalan es más leucemogeno que la ciclofosfamida. Latencia media de 4-6 años. Relación dosis-efecto.
<b>Antraciclina</b> s (daunorubicina, doxorubicina, mitoxantrone, idarubicina)	Leucemia	Latencia media de 1-3 años
<b>Irradiación</b> (cualquier tipo)	Sarcoma	Factores de riesgo: dosis altas de irradiación, administración concomitante de agentes alquilantes o antraciclina, edad temprana al diagnóstico, sarcoma o retinoblastoma como enfermedad de base, historia familiar de sarcoma
	Neoplasias de piel no melanoma	El 50% de los pacientes presentarán múltiples lesiones. Carcinoma basal se relaciona con la dosis de irradiación.
	Melanoma	Factores de riesgo: dosis de irradiación > 15 Gy, historia previa de melanoma, retinoblastoma, melanoma familiar.
<b>Irradiación craneal y de cabeza/cuello</b> (incluida TBI)	Cáncer tiroideo	Factores de riesgo: irradiación 15-30 Gy, edad temprana, sexo femenino.
	Tumores cerebrales	Los más frecuentes son meningiomas y gliomas. Riesgo aumenta con la dosis de irradiación.
	Carcinoma de cabeza y cuello	El más frecuente es el carcinoma de parótidas, seguido por el carcinoma de cabeza y cuello. El riesgo de carcinoma de glándula salivar aumenta de forma lineal con la dosis.
<b>Irradiación torácica</b> (tórax, pulmón, mediastino, TBI)	Cáncer de mama	Factores de riesgo: aumenta con la dosis, edad 10-30 años al diagnóstico. Latencia: 10-15 años
	Cáncer pulmonar	Riesgo aumentado en supervivientes de linfoma de Hodgkin. Riesgo aumentado en fumadores.
	Cáncer tiroideo	Factores de riesgo: dosis de irradiación 15-30 Gy, edad temprana al tratamiento, sexo femenino.
<b>Irradiación abdominal</b> (abdominal, periaortica, flanco)	Cáncer gastrointestinal	Factores de riesgo: dosis > 30 Gy; tratamiento concomitante con agentes alquilantes; aumento de del riesgo con la dosis y el volumen de irradiación.
<b>Irradiación pélvica</b> (pelvis, "Y" invertida, TBI)	Cáncer genitourinario	Riesgo aumentado para neoplasias de tracto genital femenino, cáncer de vejiga y carcinoma renal.

### 4.3.1 Cáncer de mama

Se trata de una de las neoplasias secundarias asociadas a radioterapia más frecuentes en los supervivientes de un cáncer infantil. La radioterapia en manto, mediastínica, torácica, espinal, pulmonar y la TBI, constituyen factores de riesgo. Amplios estudios de cohorte reportan un aumento del riesgo de 15 a 30 veces respecto a la población general. Mayor riesgo se observa en las pacientes que han sido tratadas entre los 10 y 30 años con irradiación torácica de intensidad superior a 30 Gy, con aumento linear del riesgo con el aumento de la dosis. El tiempo de latencia típico es de 10 a 15 años post-tratamiento, aunque se han reportado también casos en pacientes de menos de 20 años y después de una latencia inferior a 4 años. El cáncer de mama secundario es más frecuente en los casos tratados con irradiación torácica por linfoma de Hodgkin aunque todas las mujeres que recibieron irradiación a nivel torácico por cualquier neoplasia presentan un riesgo aumentado de desarrollar una segunda neoplasia de mama. De forma interesante las pacientes que habían recibido tratamiento para bloquear la función ovárica presentan un riesgo inferior.<sup>246,247,248,249</sup>

El tipo de tumor más frecuente es el carcinoma ductal. Características biológicas de mal pronóstico (ej. negatividad del receptor hormonal) pueden ser más comunes en este grupo de pacientes que en la población general.<sup>250,251,252</sup>

El tumor se puede detectar por imagen radiográfica y presenta un excelente pronóstico si tratado en las fases precoces. No obstante, el tratamiento a veces puede verse limitado por la terapia recibida anteriormente: la exposición a las antraciclinas y la potencial cardiotoxicidad puede limitar el uso de quimioterapia adjuvante con doxorubicina, y la posibilidad de necrosis tisular a causa de irradiación torácica podría limitar la opción de cirugía conservativa en algunas mujeres.<sup>253</sup>

En 2008 se publicó un estudio colaborativo entre el Fred Hutchinson Cancer Center (FHCC) y el European Bone Marrow Transplantation (EBMT) para evaluar la incidencia de segundas neoplasias de mama en las supervivientes de un alo-TPH.<sup>239</sup> La cohorte incluyó 3337 pacientes, de las cuales 1026 habían recibido el TPH en edad pediátrica. Se observaron 52 casos de neoplasias de

mama con una mediana de tiempo de aparición de 12,5 años post TPH (5,7-24,8 años). La incidencia acumulada aumentaba notablemente con los años, siendo 0,8% a 10 años, 4,6% a 20 años y 11% a 25 años post TPH. El riesgo fue significativamente superior en mujeres con edad < 18 años al TPH. También el uso de TBI en el acondicionamiento fue un factor de riesgo significativo. El tipo de donante, la EICH aguda o crónica, no influyeron en el riesgo.

Según los autores, una limitación del estudio consiste en no tener disponibles los datos sobre la exposición a radioterapia pre-trasplante. Aunque, 48 de las 52 neoplasias de mama se presentaron en mujeres que habían sido tratadas por neoplasias para las cuales la radioterapia toraco-abdominal era improbable, por lo que es improbable que la radioterapia constituiría un factor de riesgo en este grupo. Al mismo tiempo, probablemente otros factores de riesgo podrían asociarse al desarrollo de segundas neoplasias de mama, como por ejemplo el uso de terapia hormonal. Las pacientes sometidas a un TPH presentan frecuentemente fallo gonadal primario o secundario, que puede requerir tratamiento sustitutivo hormonal que podría modificar el riesgo de cáncer de mama. En este estudio pero no hay suficientes datos recolectados sobre la exposición hormonal u otros factores, como la edad de menarquia, historia de embarazo, historia familiar de cáncer, para poder establecer factores de riesgo. Debería aconsejarse realizar revisiones periódicas para el cáncer de mama en las supervivientes de un alo-TPH, particularmente en quien recibió el trasplante en edad pediátrica y quien fue expuesta a TBI como parte del acondicionamiento. Las revisiones deberían incluir, además de la auto-palpación, pruebas como mamografía o RMN, tal como está recomendado para las supervivientes de un linfoma de Hodgkin o de cánceres infantiles.<sup>254</sup>

#### 4.3.2 Cáncer de tiroides

---

El cáncer de tiroides es una neoplasia que se ha relacionado con la radioterapia. Factores de riesgo para su desarrollo incluyen la radioterapia de cabeza, cuello y tórax superior, la TBI y el tratamiento con yodo radioactivo, con un riesgo relativo estimado entre 4 y 36. La incidencia acumulada reportada en mujeres es de 1,3% a 30 años y 4,4% en caso de antecedente de linfoma de Hodgkin.<sup>255,256</sup>

El carcinoma papilar bien diferenciado es el tipo más frecuente (63-80% de los casos) aunque se observa también el carcinoma folicular.<sup>257,258,259</sup> La latencia mínima observada es de 5 años, aunque se han descrito casos muy precoces. A 20 años de seguimiento el riesgo relativo es invariado y no se alcanza un plateau después de 40 años de seguimiento.<sup>260</sup> El riesgo se relaciona con la dosis de radioterapia pero a diferencia de otros tumores, el riesgo es más alto a dosis más bajas (de 15 a 30 Gy) mientras disminuye con dosis superiores de 30 Gy.<sup>261,262</sup> Estos hallazgos demuestran que el tejido tiroideo presenta una sensibilidad aumentada para la toxicidad de la irradiación y suporta la hipótesis que dosis muy elevadas de irradiación provocan la muerte celular, que reduce la iniciación del proceso de carcinogénesis observado a dosis más bajas.<sup>261</sup> El sexo femenino y la edad al tratamiento constituyen factores de riesgo independientes para los tumores tiroideos secundarios.<sup>255</sup> Se trata de tumores con un pronóstico excelente por lo cual es importante un programa de screening.

En la literatura se reportan pocos artículos acerca de neoplasia de tiroides post-TPH, prevalentemente como casos aislados o pequeñas series de un único centro. En 2007 el grupo europeo de trasplantes (EBMT) publicó un estudio<sup>238</sup> que incluyó 70.859 pacientes, de los cuales alrededor de 20.000 habían recibido el TPH en edad entre 0 y 20 años. Los receptores de un TPH mostraron un aumento del riesgo de neoplasias malignas de tiroides respecto a la población general, con una ratio de casos observados/esperados de 3,26. Se observaron 32 casos de carcinoma de tiroides: 23 casos de carcinoma papilar y 9 casos de carcinoma folicular. Los síntomas de presentación fueron: la presencia de un nódulo palpable en 18 pacientes; bocio tiroideo en 3 casos; parálisis de nervio laríngeo en 1 paciente. Nueve pacientes no presentaron síntomas clínicos y el diagnóstico se realizó a raíz de un examen de rutina con ecografía. La mediana de tiempo entre el TPH y la aparición de la neoplasia fue 11,2 años (0,9-18,5 años) para el papilar y 6,2 años (2,6-15,9 años) para el folicular. El tipo de TPH fue autólogo en 9 pacientes y alogénico en 23 pacientes. Se observó un riesgo significativamente mayor en pacientes que recibieron el trasplante en edad menor a 20 años (standardized incidence ratio, SIR, 9,04; IC 95%: 3,31-19,64), en particular en niños de edad inferior a 10 años (SIR 61; IC 95%: 34,93-99,23). Respecto a otros factores de riesgo: se observó un riesgo aumentado en

pacientes sometidos a radioterapia (SIR 7,63), trasplante alogénico (SIR 6,45) y que habían desarrollado EICH crónica (SIR 9,68). Se observó también un aumento del riesgo en pacientes con aplasia medular adquirida (SIR 7,59) respecto a pacientes con enfermedad hemato-oncológica (SIR 2,93). En el análisis multivariante la edad temprana al TPH fue el principal factor de riesgo para carcinoma de tiroides, con un aumento de riesgo relativo al disminuir la edad: RR 4,80 para pacientes entre 11 y 20 años; RR 24,61 para pacientes con edad inferior a 10 años al TPH. El intervalo relativamente breve entre trasplante y aparición de la neoplasia (mediana de tiempo de 8,5 años) sugiere un mecanismo más agresivo de transformación maligna de las células tiroideas en los receptores de un trasplante hematopoyético respecto a cuanto observado en la población general y en pacientes expuestos a otros tipos de tratamientos (ej. irradiación por ensanchamiento tímico). No obstante la radioterapia sea un conocido factor de riesgo para neoplasias de tiroides, en este estudio se vio que 7 casos se verificaron en pacientes que no habían recibido en ningún momento irradiación y se reportó (aunque sólo en la análisis univariante) que pacientes con aplasia medular, nunca irradiados, presentaban un aumento del riesgo de 7,59 que es más del doble superior al riesgo reportado en pacientes con enfermedad de base hemato-oncológica.

El pronóstico de las neoplasias tiroideas detectadas precozmente es excelente con una supervivencia a 25 años del 95% para el carcinoma papilar y 66% para el folicular. En esta serie del grupo EBMT se confirmó este pronóstico con sólo un paciente fallecido a causa de la progresión agresiva de un carcinoma folicular desarrollado precozmente después del TPH. En conclusión, este estudio confirma la necesidad de programas de seguimiento para la detección precoz de segundas neoplasias tiroideas en pacientes sometidos a trasplante hematopoyético, sobre todo si realizado en edad pediátrica.

### 4.3.3 Sarcomas

---

Los pacientes que recibieron irradiación presentan un riesgo aumentado de presentar tumores secundarios de hueso y tejidos blandos y a nivel de la zona de irradiación. Al mismo tiempo, también pacientes con un diagnóstico primario

de sarcoma y retinoblastoma hereditario, aunque no hayan recibido radioterapia, presentan un incremento del riesgo, sugiriendo una predisposición genética.<sup>212,263,264</sup> La latencia mediana es de 11 años, con un riesgo persistentemente elevado después de 20 años de seguimiento. El riesgo se correlaciona con la dosis de irradiación con un aumento significativo a más de 30 Gy.<sup>263</sup>

#### 4.3.4 Cáncer de piel

---

El riesgo de melanoma es de 2,5 a 9 veces superior en pacientes con historia de cáncer infantil, con una latencia mediana de 15 a 18 años. Un estudio caso-control de 16 pacientes con melanoma secundario en una cohorte europea de 4000 supervivientes de un cáncer infantil evidenció una asociación entre melanoma y exposición a radioterapia superior a 15 Gy.<sup>265</sup>

Por otro lado los carcinomas basocelulares y los carcinomas escamosos presentan una asociación más clara con la irradiación, con un 90% de tumores no melanomas diagnosticados en campos previamente irradiados.<sup>266,267</sup> Está descrita una relación dosis-respuesta para los carcinomas basocelulares con un exceso de riesgo de 1,09 por cada Gy de irradiación.<sup>268</sup> Estos tipos de tumores de piel de bajo grado suelen ser recurrentes y casi la mitad de pacientes presentarán lesiones múltiples. La prognosis es excelente con un diagnóstico precoz, por lo que se recomienda una revisión rutinaria. Dado que las radiaciones solares ultravioletas son un factor de riesgo conocido para cáncer de piel, los pacientes deberían ser educados de forma rutinaria acerca de estrategias de prevención como protección solar exhaustiva.

#### 4.3.5 Tumores del sistema nervioso central

---

La exposición previa a irradiación craneal se considera como el principal factor de riesgo para el desarrollo de tumores del sistema nervioso central. Los tumores más comunes son el meningioma y el glioma, aunque se han descrito también otros tumores como el tumor primitivo neuroectodermico o el

meduloblastoma.<sup>269,270,271</sup> En un análisis del British Childhood Cancer Survivor Study (CCSS)<sup>272</sup> el riesgo de presentar un glioma fue de 10,8 siendo aún superior para meningiomas.<sup>273</sup> Hay una relación dosis-efecto entre la dosis de irradiación craneal y la incidencia de segundos tumores de SNC. En la cohorte del estudio CCSS se reportó un aumento del RR de 1,06 por cada Gy de irradiación craneal en el caso de meningiomas y de 0,3 por cada Gy en los gliomas.<sup>269</sup>

La influencia de la quimioterapia en el desarrollo de tumores cerebrales es controvertida. Algún estudio de laboratorio sugiere que los quimioterápicos basados en tiopurinas pueden aumentar el riesgo de tumores cerebrales radio-inducidos debido al déficit de enzima tiopurina-metiltransferasa.<sup>274</sup>

Los pacientes con una historia de irradiación craneal tienen que ser educados acerca del posible riesgo de desarrollar un tumor cerebral y sobre la necesidad de referir cualquier sintomatología neurológica nueva o persistente. El papel de las pruebas de imagen a realizar de rutina en esta población de pacientes, es aún controvertido.

#### **4.3.6 Neoplasias hematológicas**

---

Está descrito un aumento del riesgo de segundas leucemias, en particular leucemia mieloblastica aguda, después del tratamiento de un tumor sólido primario o de una leucemia linfoblastica aguda, en particular después de la exposición a inhibidores de topoisomerasa II y agentes alquilantes.<sup>275,276</sup>

A diferencia de los tumores sólidos asociados a radioterapia, el tiempo de latencia para la aparición de una leucemia es dentro de los primeros 10 años después del tratamiento quimioterápico, con el mayor riesgo observado en los primeros 5 años. En un estudio de 4202 supervivientes de un tumor sólido infantil, el RR de leucemia fue de 20 a los 3-5 años, bajando a 2,2 a los 10 años.<sup>275</sup> En este mismo estudio se observó un segundo pico de leucemias a los 20 años o más de seguimiento (RR 14,8).

El papel de la irradiación en el riesgo de leucemia secundaria es debatido, con estudios que no evidencian asociación y otros que reportan segundas leucemias en pacientes que recibieron exclusivamente radioterapia sin quimioterapia.<sup>277,275</sup>

Hay que considerar también que otros factores personales como polimorfismo en los genes que regulan la reparación de ADN, pueden contribuir a la susceptibilidad para una segunda leucemia aguda.<sup>278</sup>

El pronóstico de las leucemias mieloblasticas secundarias es generalmente pobre, siendo reportada una supervivencia a 5 años alrededor del 30%.<sup>279</sup>

Según cuanto reportado en la literatura las neoplasias hematológicas (SMD secundario y LAM) se observan entre un 5% y 15% en los receptores de un auto-TPH con un tiempo de latencia para su aparición de 2-5 años.<sup>280</sup> Factores de riesgo incluyen la edad más avanzada al TPH, el tipo e intensidad de quimioterapia antes del TPH (especialmente agentes alquilantes) y el uso de TBI en el acondicionamiento. La supervivencia a largo plazo es inferior al 20%.<sup>245</sup>

Al contrario son extremadamente raras después de un trasplante alogénico: en menos de 1% de casos una leucemia puede originar desde las células del donante. Mecanismos patogénéticos implicados incluyen alteraciones oncogénicas o envejecimiento prematuro de las células del donante trasplantadas en un receptor inmunodeprimido y la alteración de la normal homeostasis en el microambiente medular después de TPH.<sup>281</sup>

#### **4.3.7 Síndrome linfoproliferativo post-trasplante**

---

El síndrome linfoproliferativo post trasplante (SLPT) incluye un grupo heterogéneo de proliferaciones linfoides que primariamente implican los linfocitos B y que tiene como desencadenante principal una infección por EBV. Se manifiesta principalmente en los receptores de un alo-TPH originando a partir de las células del donante, siendo extremadamente raro después del trasplante autólogo.<sup>245</sup> La incidencia global es entre 1% y 2% y típicamente se manifiesta precozmente después del trasplante, siendo más del 80% de casos diagnosticados dentro del primer año.<sup>282,283</sup> Según la clasificación de la WHO (World Health Organization) el SLPT se clasifica en formas benignas precoces, formas polimórfas, monomórfas y SLPT tipo-Hodgkin. A parte del EBV, uno de los factores de riesgo más importantes es la depleción linfocitaria T del inóculo hematopoyético, incluyendo el uso de ATG o anti-CD3. Otros factores de riesgo

incluyen la EICH aguda y el uso de donantes no relacionados o familiares alternativos. La EICH crónica extensa parece asociarse a un aumento del riesgo de las formas de aparición tardía (> 1 año).

Dado que el SLPT en la variante monomorfa se asocia a una alta mortalidad, se ha ido extendiendo la práctica de una vigilancia estricta de la replicación viral EBV en los pacientes de alto riesgo (ej. depleción T, uso de ATG) para iniciar un tratamiento antiviral anticipatorio con Rituximab cuando las copias de EBV superen un límite (ej. >1000 copias/mL con técnica PCR). Una vez que se manifieste el SLPT el tratamiento es complicado dado que en muchas ocasiones están implicados varios órganos al diagnóstico, causando una notable morbilidad y se puede asociar a otras infecciones (ej. fúngicas o por CMV). El tratamiento antiviral con Aciclovir o Ganciclovir es de limitada utilidad. Una estrategia consiste en la retirada de la inmunosupresión que pero puede ser difícil en pacientes con EICH activa. Normalmente las formas multinodales y de inicio tardío presentan una mala respuesta al Rituximab como único agente y se tienen que considerar estrategias basadas en quimioterapia (ej. esquema R-CHOP). La infusión de linfocitos T citotóxicos específicos anti EBV es un tratamiento novedoso y esperanzador que está demostrando buenos resultados.<sup>284</sup>

## **5 JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO**

La justificación de este trabajo es analizar la evolución a largo plazo de los pacientes que fueron sometidos en edad pediátrica a un Trasplante de Progenitores Hematopoyético entre los años 1984-2013 en la Unidad de Trasplante Hematopoyético Pediátrico del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, con el objetivo principal de estudiar la incidencia de neoplasias secundarias.



## **6 OBJETIVOS**

### **Objetivo principal**

Estudiar la incidencia de neoplasias secundarias en los pacientes sometidos a TPH en edad pediátrica.

### **Objetivos secundarios**

- Establecer los factores de riesgo para el desarrollo de una neoplasia secundaria post-TPH.
- Conocer características y evolución de las neoplasias secundarias post-TPH



## 7 PACIENTES Y MÉTODOS

### 7.1 Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional, retrospectivo, analítico y descriptivo. Los sujetos del estudio son 371 pacientes que recibieron un trasplante hematopoyético entre 1984 y 2013 en la Unidad de Trasplante Hematopoyético del Servicio de Pediatría del Hospital Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.

#### 7.1.1 Criterios de inclusión:

- Edad entre 0 y 18 años
- TPH autólogo y alogénico
- Realización del TPH entre los años 1984-2013.

**Instrumentos y medidas:** se ha realizado una recogida de parámetros clínicos y analíticos, mediante revisión de la historia clínica pre y post-TPH con el objetivo de realizar una base de datos que permitiera el procesamiento y posterior análisis estadístico de los datos. Se ha realizado entrevista telefónica personal con pacientes ya adultos y dados de alta del seguimiento, para evitar la pérdida de casos.

**Consideraciones éticas:** todos los tutores legales de los pacientes habían firmado un consentimiento informado para ser sometidos al trasplante de progenitores hematopoyéticos y a los estudios subsidiarios.

## 7.2 Variables a estudio

### Características del paciente:

- Fecha de nacimiento y sexo
- Enfermedad de base y fecha del diagnóstico
- Radioterapia previa al trasplante
- Fecha del TPH y edad del paciente al TPH

### Características del TPH:

- Tipo de TPH:
  - a) Autólogo
  - b) Alogénico familiar:
    - i) hermano
    - ii) haploidéntico
  - c) Alogénico no familiar
- Fuente del TPH:
  - a) Médula ósea (MO)
  - b) Sangre periférica (SP)
  - c) Sangre de cordón umbilical (SCU)
  - d) Combinación de fuentes
- Identidad HLA: idéntico o no idéntico
- Acondicionamiento empleado (basado en radioterapia corporal total o sólo en quimioterapia)
- Depleción de linfocitos T in vivo (uso de gammaglobulina antitimocítica o alemtuzumab)
- Profilaxis inmunosupresora empleada contra la enfermedad injerto contra huésped

**Evolución y resultados del TPH:**

- EICH aguda:
  - a) Si/No
  - b) Grado I-II o III-IV
- EICH crónica:
  - a) Si/No
  - b) Limitada
  - c) Extensa
- Tratamiento para EICH
  - a) terapia corticoidea
  - b) segundas líneas de tratamiento
- Éxito y causa
- Supervivencia global
- Supervivencia libre de evento
- Muerte relacionada con el TPH
- Aparición de segunda neoplasia
  - a) Si/No
  - b) Maligna/benigna
  - c) Tipo de segunda neoplasia
  - d) Fecha de aparición de la segunda neoplasia
- Muerte relacionada con la segunda neoplasia
- Estado actual y fecha del último seguimiento



### 7.3 Descripción de los pacientes

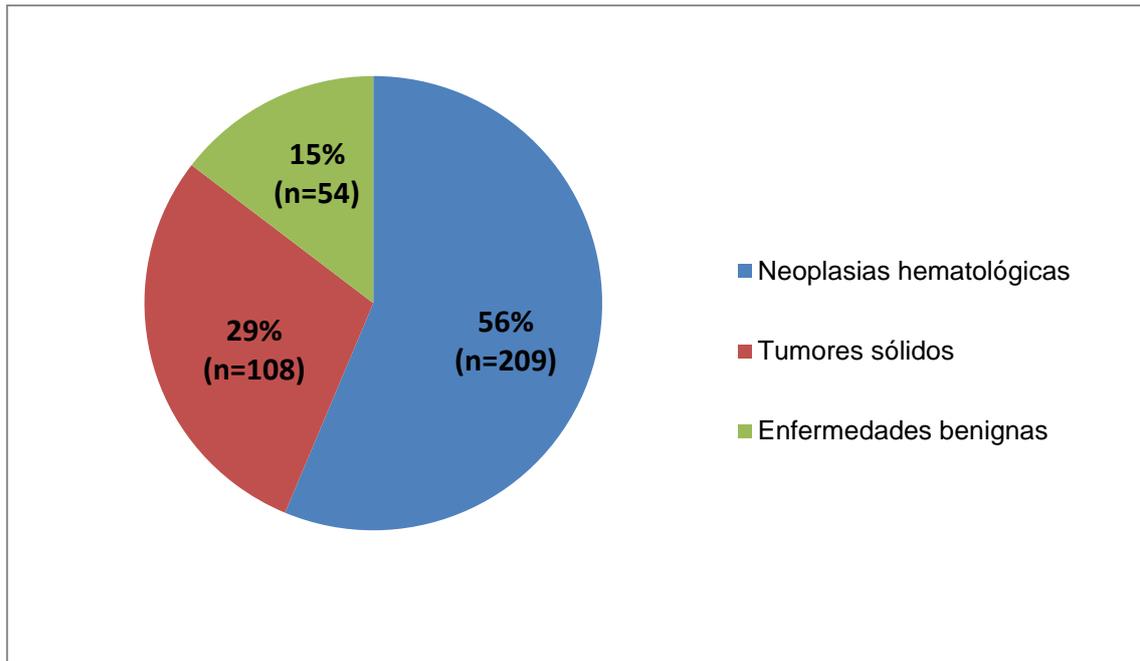
El estudio incluye 371 pacientes pediátricos (edad entre 0 y 18 años) que han sido sometidos a TPH alogénico o autólogo. En total se han analizado 434 trasplantes que corresponden al total de trasplantes realizados en el servicio de Pediatría del Hospital de Sant Pau entre el 1984 (año de inicio del programa continuado de trasplantes hematopoyéticos pediátricos en el Hospital Sant Pau) y el 2013 (fecha que se ha establecido como final de inclusión).

De los 371 pacientes 63 recibieron más de un trasplante: 2 TPH (n=58) y 3 TPH (n=5).

La edad mediana de los pacientes al trasplante era de 8,4 años (rango 0,1-20); 226 pacientes (60,9 %) eran varones y 145 (39,1 %) eran mujeres.

La enfermedad de base era de tipo maligno en 317 pacientes (85,4%) y de tipo benigno en 54 casos (14,6%). Las enfermedades malignas eran: neoplasias hematológicas (n=209) y tumores sólidos (n=108). Las enfermedades benignas eran: inmunodeficiencias primarias/osteopetrosis (n=20), aplasias medulares (n=11), insuficiencias medulares congénitas (n=8), hemoglobinopatías (n=8), errores congénitos del metabolismo (n=7). (Figura 8.Tabla 6).

La situación de la enfermedad al trasplante, en el caso de las enfermedades oncológicas, era primera remisión completa (RC1) en 146 pacientes, segunda remisión (RC2) en 101 casos y fase más avanzada o refractariedad en 70 pacientes.



**Figura 8** Principales enfermedades de base

**Tabla 6** Diagnóstico de base (detallado)

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Neoplasias hematológicas</b>	209	56,3%
<b>Tumores sólidos</b>	108	29,1%
<b>Inmunodeficiencias primarias/Osteopetrosis</b>	20	5,4%
<b>Aplasia medular</b>	11	3,0%
<b>Insuficiencias medulares congénitas</b>	8	2,2%
<b>Hemoglobinopatías</b>	8	2,2%
<b>Metabolopatías</b>	7	1,9%
<b>Total</b>	371	100%

## 7.4 Descripción de TPH

Se han analizado 234 TPH de tipo autólogo (53,9%) y 200 TPH de tipo alogénico (46,1%).

Los trasplantes alogénicos fueron a partir de donante familiar en 141 casos (32,5%) y a partir de donante no familiar en 59 casos (13,6%).

Según la compatibilidad HLA, en el caso de los donantes familiares 106 TPH fueron a partir de donante HLA idéntico y 35 de donante haploidéntico; en el caso de los TPH no emparentados 23 fueron a partir de donante HLA idéntico y 36 a partir de donante con 1 diferencia HLA. (Tabla 7)

**Tabla 7** Tipo de TPH según donante

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Autólogo</b>	234	53,9%
<b>Familiar HLA-idéntico</b>	106	24,4%
<b>Familiar Haploidéntico</b>	35	8,1%
<b>Donante no emparentado HLA-idéntico</b>	23	5,3%
<b>Donante no emparentado HLA-no idéntico</b>	36	8,3%
<b>Total</b>	434	100%

Según la fuente de progenitores hematopoyéticos se usó médula ósea en el 68,7% de los trasplantes (n=298), sangre periférica movilizada en el 23,7% (n=103) y cordón umbilical en el 5,8% (n=25). Una combinación de diferentes fuentes de progenitores (cordón umbilical con médula ósea o sangre periférica) se usó en 8 casos. (Tabla 8)

**Tabla 8** Fuente de progenitores hematopoyéticos

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Médula ósea (MO)</b>	298	68,7%
<b>Sangre periférica (SP)</b>	103	23,7%
<b>Cordón umbilical (SCU)</b>	25	5,8%
<b>SCU + MO o SP</b>	8	1,8%
<b>Total</b>	434	100%

#### 7.4.1 Régimen de acondicionamiento

El régimen de acondicionamiento previo al trasplante se basó en radioterapia corporal total (total body irradiation, TBI) junto con quimioterapia (ciclofosfamida) en el 48,2 % de trasplantes (n=209) y en una asociación de quimioterápicos en el 50,2% (n=218). Siete pacientes no recibieron tratamiento de acondicionamiento. Los regímenes de acondicionamiento basados únicamente en quimioterapia incluyeron busulfan con ciclofosfamida +/- otros (n=84), ciclofosfamida + otros (n= 62), fludarabina + otros (n=46), etoposido + otros (n=26). (Tabla 9)

Las dosis de irradiación de la TBI fue entre 10 y 13,5 Gy en la mayoría de los casos (n=190); en los otros casos se usó TBI a dosis inferiores a 10 Gy (n=12) o superior a 13,5 Gy (n=7). (Tabla 10)

**Tabla 9** Regímenes de acondicionamiento

	Frecuencia	Porcentaje
<b>CFM + TBI</b>	209	48,2%
<b>Bu + CFM o MEL ± otros</b>	84	19,4%
<b>CFM ± otros</b>	62	14,3%
<b>FLU ± otros</b>	46	10,6%
<b>VP16 ± MEL ± TT</b>	26	6,0%
<b>Sin acondicionamiento</b>	7	1,6%
<b>Total</b>	434	100%

**Tabla 10** Dosis de TBI

	Frecuencia	Porcentaje
<b>10-13,5 Gy</b>	190	43,8%
<b>&lt; 10 Gy</b>	12	2,8%
<b>&gt; 13,5 Gy</b>	7	1,6%
<b>No TBI</b>	225	51,8%
<b>Total</b>	434	100%

Todos los pacientes recibieron el tratamiento de acondicionamiento en habitaciones individuales, con sistema de flujo laminar o filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air), manteniéndose ingresados hasta la recuperación hematológica y clínica.

La profilaxis antimicrobiana realizada fue determinada por los protocolos de actuación locales e incluían la administración de tratamiento preventivo con aciclovir, fluconazol, ciprofloxacino o cefuroxima, a partir del día -1. En presencia de fiebre neutropénica se iniciaba tratamiento antibiótico de amplio espectro con cefalosporina de segunda generación y eventualmente tratamiento antifúngico.

El trimetoprim-sulfametoxazol se administró a partir de la recuperación hematológica durante por lo menos 6 meses post trasplante. Se realizaron de forma rutinaria monitorización estricta para detectar reactivación vírica (CMV o EBV) mediante antigenemia o PCR y monitorización de antígeno de aspergillo. Los pacientes después del alta hospitalaria realizaron controles clínico-analíticos seriados en régimen ambulatorio.

#### 7.4.2 Profilaxis EICH y depleción linfocitos T

En el trasplante alogénico la profilaxis de injerto contra el huésped se realizó prevalentemente con Ciclosporina A (2,5 mg/Kg/día; a partir del día -1 a la infusión de progenitores, repartida en 2 dosis, con ajustes de dosis posteriores según nivel plasmático) (n=88); también en asociación a otros inmunosupresores, principalmente Metotrexato en tanda corta (15mg/m<sup>2</sup> a la 24 h de la infusión de progenitores en el día +1 y 10mg/m<sup>2</sup> en los días +3 y +6) o Mofetil Micofenolato (15mg/Kg/8h) (n=70). En 24 TPH se usó CsA con MMF y en 18 TPH se usó CsA con PDN. (Tabla 11)

Se realizó depleción linfocitaria in vivo con la administración de Timoglobulina anti-timocítica (ATG) o Alemtuzumab (Campath) en 56 pacientes. (Tabla 12)

**Tabla 11** Profilaxis EICH en alo-TPH

	Frecuencia	Porcentaje
<b>CsA</b>	88	20,3%
<b>CsA + MTX ± MMF ± PDN ± Depleción Linfo T (ex vivo)</b>	70	16,1%
<b>CsA + PDN ± Depleción Linfo T (ex vivo)</b>	18	4,1%
<b>CsA + MMF</b>	24	5,5%
<b>No (auto-TPH)</b>	234	54%
<b>Total</b>	434	100%

**Tabla 12** Depleción linfocitaria in vivo

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Si (ATG/Alemtuzumab)</b>	56	12,9%
<b>No</b>	144	33,1%
<b>Auto-TPH</b>	234	54%
<b>Total</b>	434	100%

### 7.4.3 Radioterapia previa al TPH

De los pacientes con enfermedad oncológica 58 pacientes habían recibido radioterapia antes del trasplante: 47 pacientes a dosis 12,5-20 Gy y 11 pacientes a dosis superiores a 20 Gy. Las localizaciones principales de la irradiación fueron toraco-abdominal (n=21) y craneal (holocraneal/orbita) (n=21). La TBI se realizó en 12 pacientes. Tres pacientes recibieron radioterapia a nivel de extremidades y un paciente a nivel testicular. (Tabla 13)

**Tabla 13** Localización radioterapia pre-TPH

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Holocraneal +/- Orbita</b>	21	4,8%
<b>Tórax +/- Abdomen</b>	21	4,8%
<b>TBI</b>	12	2,8%
<b>Extremidad</b>	3	0,7%
<b>Testículo</b>	1	0,2%
<b>No</b>	376	86,6%
<b>Total</b>	434	100%



## 7.5 Análisis de datos

Se ha realizado un estudio estadístico calculando el porcentaje y el número de casos para las variables de tipo categórico. Para las variables cuantitativas se ha facilitado la mediana, el mínimo y el máximo.

Se ha considerado evento a los acontecimientos desfavorables que han ocurrido durante el período posterior al TPH, como por ejemplo: recaída de la enfermedad de base, aparición de una segunda neoplasia, éxitus del paciente.

Se ha definido como Supervivencia global el tiempo transcurrido entre la realización del TPH y fallecimiento, de cualquier causa.

Se ha definido como Supervivencia libre de evento el tiempo transcurrido entre la realización del TPH y la presentación de cualquier evento.

Las curvas de Supervivencia Global (SG) y Supervivencia Libre de Evento (SLE) se han realizado siguiendo el método de Kaplan-Meier. En caso de comparar algún factor, la comparación se realizó mediante el test log-rank.

Uno de los objetivos previstos en la presente investigación ha sido estudiar la posible influencia de factores relacionados con el trasplante en el aumento del riesgo de segundas neoplasias. La descripción univariante se ha llevado a cabo mediante tablas de contingencia y el test inferencial empleado ha sido el Chi-cuadrado. La aproximación multivariante se ha realizado mediante un modelo de regresión logística (facilitando para cada variable su correspondiente Odds Ratio).

El nivel de significación estadístico se ha fijado en el usual del 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

El análisis estadístico de los datos se ha realizado con el programa estadístico IBM-SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 22.0 para Windows.



## 8 RESULTADOS

### 8.1 Estudio de supervivencia

#### 8.1.1 Supervivencia global

El máximo de seguimiento para nuestra población en estudio ha sido de 30 años con una media  $\pm$  desviación estándar (DE) de  $7,6 \pm 9,6$  años y una mediana de 2,18 años (0,01-30).

De los 371 pacientes sometidos a TPH 163 siguen vivos (44%) y los restantes 208 han fallecido (56%).

La supervivencia global (SG) a 30 años de seguimiento de los 371 pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos es del 38%. (Figura 9)

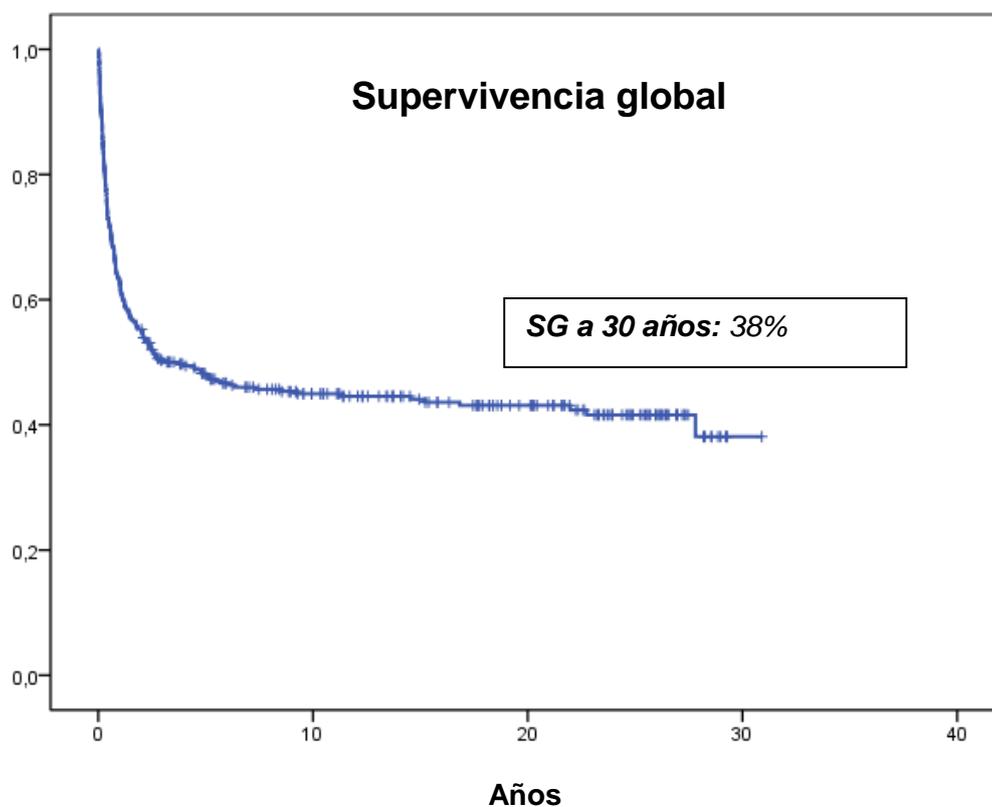


Figura 9 Curva de Supervivencia global

### 8.1.2 Supervivencia libre de evento

En nuestra serie, 223 pacientes (60%) han presentado algún evento o acontecimiento (recaída, segunda neoplasia o muerte). La supervivencia actuarial libre de evento (SLE) a 30 años de nuestra serie de 371 pacientes sometidos a TPH es de 27%. La mediana de seguimiento en los pacientes que no presentaron ningún evento es de 14,13 años (1,2-14,8) y en los pacientes que presentaron un evento es de 0,29 años (0,01-28,4). (Figura 10)

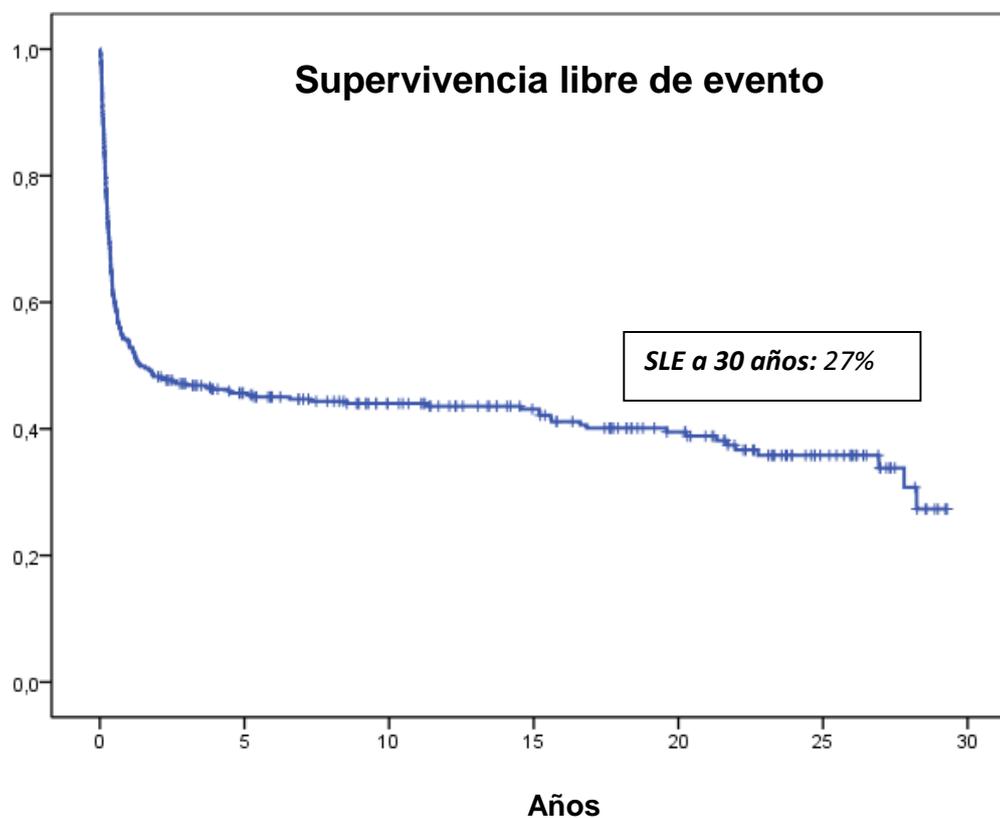
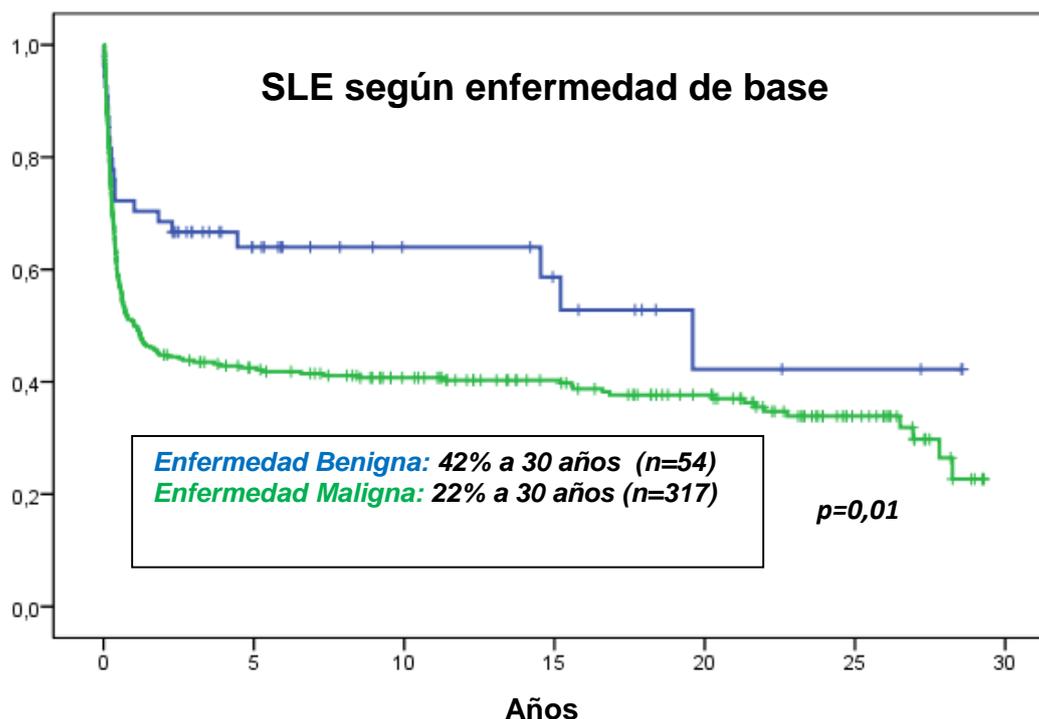


Figura 10 Curva de Supervivencia actuarial libre de evento

### 8.1.3 Supervivencia libre de evento según enfermedad

En relación a la supervivencia libre de evento (SLE), definiendo evento como acontecimiento adverso la recaída, la aparición de segunda neoplasia maligna y el éxito, de los 54 pacientes con enfermedad de base benigna, 32 han presentado algún evento (59%); de los 317 pacientes con enfermedad maligna, 114 han presentado eventos (36%).

La supervivencia actuarial libre de evento a 30 años en los pacientes con enfermedad benigna es del 42%, con una mediana de SLE de 15,2 años (IC 95%: 12,4-26,7 años). La supervivencia actuarial libre de evento a 30 años en los pacientes con enfermedad maligna es del 22%, con una mediana de SLE de 1 año (IC 95%: 0,3-1,7 años). La diferencia es estadísticamente significativa ( $p=0,01$ ). (Figura 11)



**Figura 11** Curva de supervivencia actuarial libre de evento según tipo de enfermedad

### 8.1.4 Supervivencia libre de evento según tipo de trasplante y donante

Según el tipo de trasplante de progenitores hematopoyéticos, de los 216 pacientes sometidos a trasplante autólogo 93 siguen vivos; de los 155 pacientes sometidos a trasplante alogénico 70 siguen vivos.

La supervivencia actuarial libre de evento a 31,6 años en los pacientes sometidos a trasplante autólogo es de 24,5%; en los pacientes sometidos a trasplante alogénico de donante familiar HLA idéntico es de 33%; en los pacientes sometidos a trasplante alogénico de donante no familiar HLA idéntico es 61% y en los no idénticos es de 31%; en los pacientes sometidos a trasplante haploidéntico es de 19%. La diferencia es estadísticamente significativa ( $p=0,04$ ). (Figura 12)

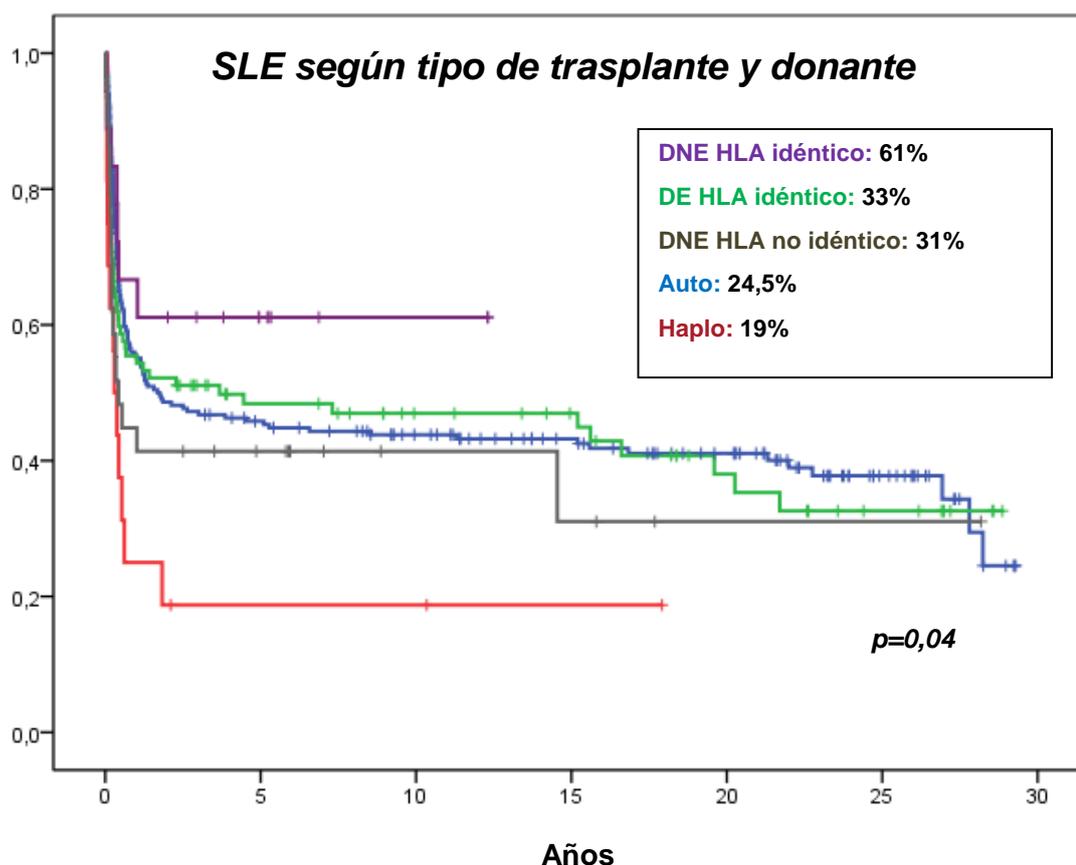


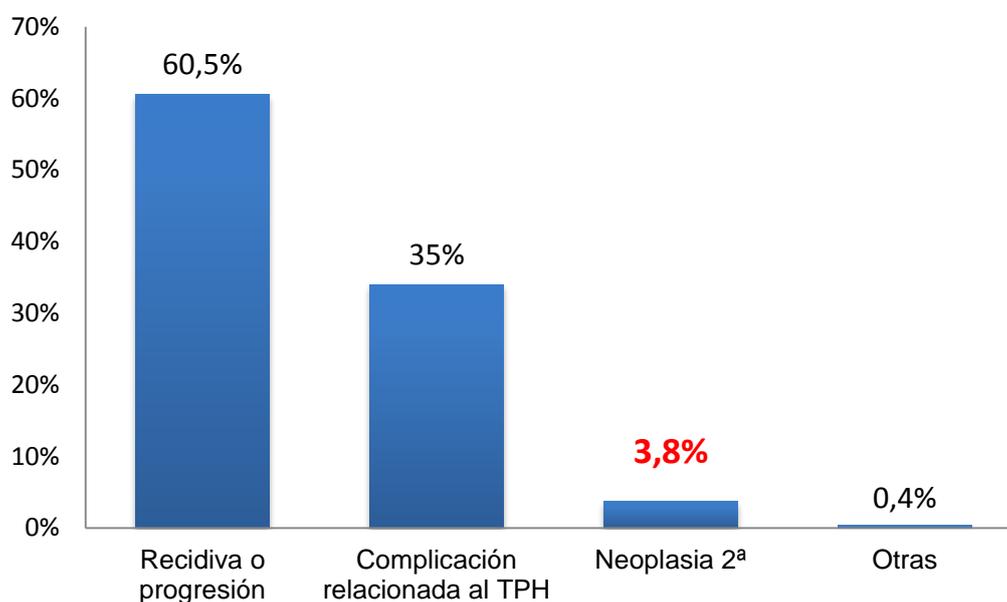
Figura 12 Curva de Supervivencia actuarial libre de evento según tipo de trasplante y donante

### 8.1.5 Causas de éxitus

La probabilidad de mortalidad relacionada con el TPH a 100 días fue de 12% y la mortalidad global relacionada con el TPH fue de 20% a 30 años.

Las causas de muerte en los 208 pacientes fallecidos fueron: recidivas o progresión de la enfermedad (n=126; 60,5%), complicación relacionada con el trasplante hematopoyético (n=73; 35%), neoplasia secundaria (n=8; 3,8%) y otra causa (n=1; 0,4%).

Las causas de muerte relacionadas con el trasplante fueron: infección (n=34), EICH aguda (n=13), neumonitis intersticial (n=10), hemorragia (n=6), enfermedad venoclusiva hepática (n=5), fallo de implante (n=2), insuficiencia cardíaca (n=2), síndrome hamofagocítico (n=1). (Figura 13. Tabla 14)



**Figura 13** Causas de éxitus en los 208 pacientes fallecidos

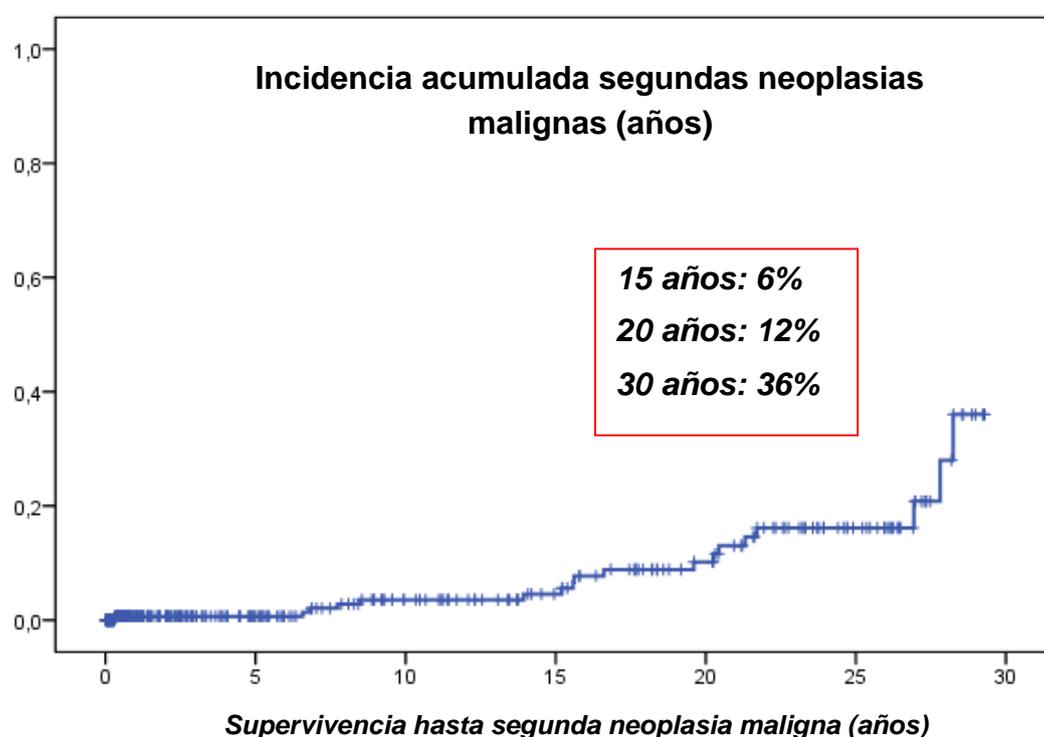
**Tabla 14** Causas de éxitus específicas en los 208 pacientes fallecidos

<b>Causas de éxitus</b>	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
Recaída o progresión	126	60,5%
Infección-Sepsis	34	16,3%
EICH aguda	13	6,2%
Neumonitis intersticial	10	4,8%
<b>Segunda Neoplasia</b>	<b>8</b>	<b>3,8%</b>
Hemorragia	6	2,8%
Enfermedad venoclusiva hepática (EVOH)	5	2,4%
Fallo implante	2	0,9%
Insuficiencia cardíaca	2	0,9%
Sd. hemofagocítico	1	0,4%
Otra causa	1	0,4%
Total	208	100%

## 8.2 Segundas neoplasias

### 8.2.1 Incidencia acumulada segundas neoplasias malignas

En nuestra serie de 371 pacientes se han observado 19 casos de segunda neoplasia maligna (5,1%). La incidencia acumulada ha sido de 6% a 15 años, de 12% a 20 años y de 36 % a 30 años de seguimiento. (Figura 14)



**Figura 14** Incidencia acumulada segundas neoplasias malignas

## 8.2.2 Tipología de neoplasias

Las neoplasias más prevalentes han sido de tipo sólido (n=16). En este grupo las neoplasias cutáneas han sido las más frecuentes (n=5), seguidas por carcinomas de tiroides (n=3), neoplasias ginecológicas (n=3) y sarcomas (n=3); se ha registrado un caso de tumor cerebral y un caso de carcinoma de colon. Las neoplasias hematológicas fueron 3: leucemia aguda mieloblastica (n=2) y síndrome linfoproliferativo (n=1).

En la tabla 15 se describen tipologías y numero de neoplasias observadas.

**Tabla 15** Tipo y frecuencia de las segundas neoplasias malignas

TIPO DE NEOPLASIA MALIGNA	N (=19)
<b>NEOPLASIAS CUTÁNEAS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma basocelular (3)</li> <li>• Carcinoma escamoso (1)</li> <li>• Melanoma (1)</li> </ul>	5
<b>CARCINOMA TIROIDES</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Papilar (2)</li> <li>• Folicular (1)</li> </ul>	3
<b>NEOPLASIAS GINECOLÓGICAS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma mama (2)</li> <li>• PNET Utero (1)</li> </ul>	3
<b>SARCOMAS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Osteosarcoma (2)</li> <li>• Angiosarcoma (1)</li> </ul>	3
<b>NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• LAM (2)</li> <li>• SLPT (1)</li> </ul>	3
<b>GLIOMA CEREBRAL</b> (Glioblastoma multiforme)	1
<b>CARCINOMA DE COLON</b>	1

### 8.2.3 Características de los pacientes con segunda neoplasia

En nuestra serie 19 pacientes desarrollaron una segunda neoplasia maligna. Doce pacientes son varones y 7 son mujeres. La edad mediana al trasplante fue de 10,9 años (3,1-17). El motivo del trasplante fue una enfermedad benigna en 2 pacientes (anemia de Fanconi y aplasia medular adquirida) y en el resto fue una enfermedad oncológica (leucemia aguda en 12 casos y tumor sólido en 5 casos). Once pacientes habían recibido un trasplante autólogo y 8 un trasplante alogénico (6 a partir de familiar HLA-idéntico y 2 a partir de donante no emparentado no idéntico). Sólo un paciente había sido sometido a dos trasplantes (alogénicos).

La fuente de progenitores hematopoyéticos había sido médula ósea en 17 trasplantes, sangre periférica en 1 trasplante y sangre de cordón umbilical en 1 trasplante.

El acondicionamiento se basó en ciclofosfamida y TBI en 14 pacientes. Cinco pacientes recibieron un régimen basado únicamente en quimioterapia (basado en fludarabina, melfalan o ciclofosfamida). Se realizó depleción linfocitaria in-vivo con administración de ATG o Alemtuzumab en 2 pacientes.

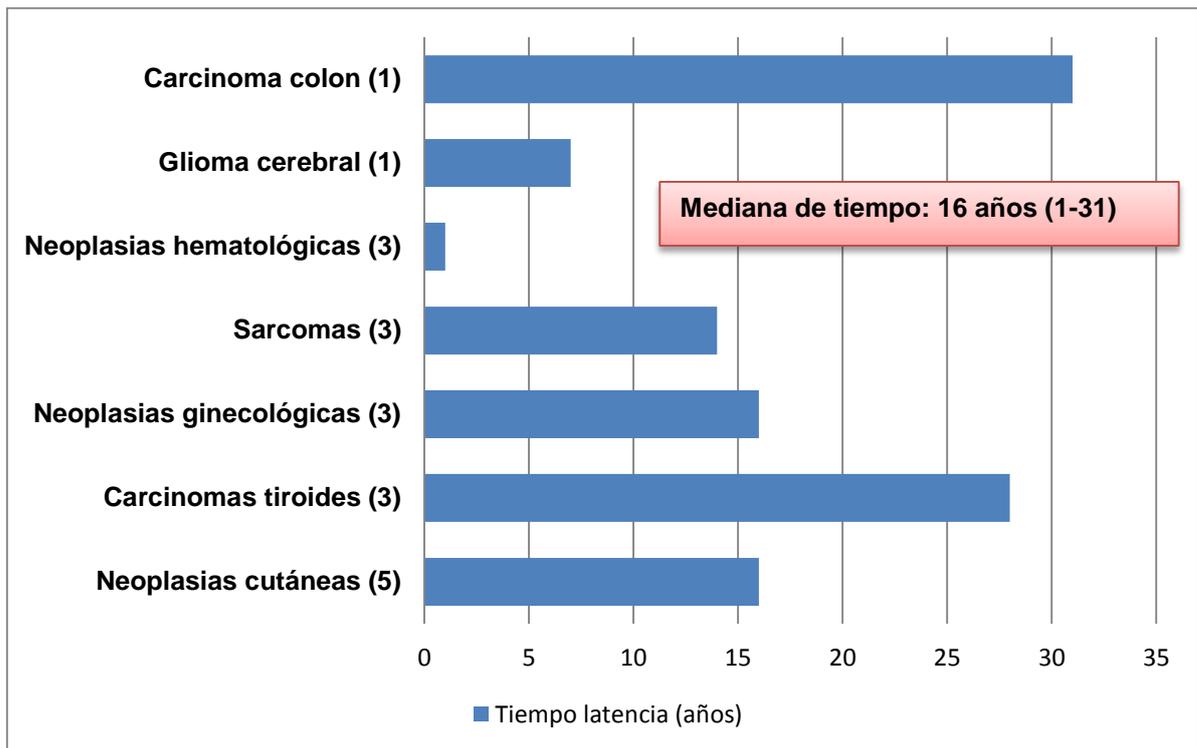
Cinco pacientes habían recibido radioterapia previamente al trasplante: 4 pacientes recibieron dosis 12,5-20 Gy y sólo 1 paciente recibió dosis superior a 20 Gy. La localización de la radioterapia fue a nivel holocraneal en 2 pacientes y toraco-abdominal en los otros 3 pacientes.

Se había diagnosticado EICH aguda en 3 pacientes (2 grado I-II y 1 grado III-IV) y EICH crónica (extensa) en 2 pacientes.

La edad mediana de los pacientes al diagnóstico de la segunda neoplasia fue 25 años (11-42). La mediana de tiempo de latencia entre el trasplante y la aparición de la segunda neoplasia fue 16 años (1-31 años). (Figura 15)

Once pacientes siguen vivos. La causa de éxitus de los ocho pacientes fallecidos fue la segunda neoplasia maligna.

Las características de los pacientes, trasplantes y segundas neoplasias se reportan detallados en las tablas 16-17.



**Figura 15** Tiempo de latencia (años) desde el TPH hasta la aparición de la segunda neoplasia maligna

**Tabla 16** Descripción características pacientes y trasplantes de los casos con segunda neoplasia maligna.

Pac.	Sexo/Edad TPH (años)	Enfermedad	Tipo TPH/ Fuente PH	Acondicionamiento/ Profilaxis EICH	Radioterapia previa (dosis)
1	M/4	T. sólido (Wilms)	Auto/MO	CARBO-VP16-MEL	Si (holocraneal) (12,5-20 Gy)
2	F/6	LAL-B	Alo-SD/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)/CsA+MTX	Si (holocraneal) (12,5-20 Gy)
3	M/13	LAL-T	Auto/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)	No
4	M/11	LAL-T	Auto/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)	No
5	F/4	LAL-B	Alo-SD/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)/CsA	No
6	F/10	LAM	Alo-SD/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)/CsA+MTX	No
7	M/15	LAL	Alo-SD/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)/CsA+MTX	No
8	M/7	LAM	Auto/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)	No
9	F/4	T. sólido (Neuroblastoma)	Auto/MO	CFM + otros QT	Si (abdomen) (12,5-20Gy))
10	M/17	LAM	Alo-DNE/SP Alo-DNE/SCU	BU-CFM/CsA+MMF FLU + otros QT/CsA	No
11	M/11	LAM	Auto/MO	CFM-TBI (12,5Gy)	No
12	F/12	LAM	Auto/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)	No
13	F/5	LAL-B	Alo-SD/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)/CsA+MTX	No
14	M/12	A.Fanconi	Alo-SD/MO	CFM-TAI (<10Gy)/CsA	No
15	M/12	Linfoma Hodgkin	Auto/MO	VP16+MEL+TT	Si (tórax) (12,5-20Gy)
16	M/14	LAL-B	Auto/MO	CFM-VP16-TBI (12,5 Gy)	No
17	M/8	Aplasia	Alo-DNE/MO	CFM-TAI (< 10Gy)-ATG/CsA+MTX	No
18	M/13	Linfoma no Hodgkin	Auto/MO	CFM-TBI (12,5 Gy)	Si (tórax) (> 20Gy)
19	F/3	T. sólido (Wilms)	Auto/MO	CFM + otro QT	No

**Tabla 17** Descripción segundas neoplasias malignas y estado actual de los pacientes.

Pac.	EICH	Tipo 2ª neoplasia	Edad 2ª neoplasia (años)	Estado actual	Causa éxitus
1		Osteosarcoma calota craneo	12	Muerto	2ª neoplasia
2	No	Glioma cerebral	13	Muerto	2ª neoplasia
3		LAM	13	Muerto	2ª neoplasia
4		LAM	20	Muerto	2ª neoplasia
5	Sí (aguda II; crónica piel extensa)	Neoplasia utero (PNET)	21	Vivo	
6	Sí (aguda I; crónica piel extensa)	Carcinoma mama	26	Vivo	
7	No	Carcinoma basocelular	34	Vivo	
8		Carcinoma basocelular	23	Vivo	
9		Osteosarcoma	25	Muerto	2ª neoplasia
10	No	SLPT x EBV	17	Muerto	2ª neoplasia
11		Adenocarcinoma colon	31	Muerto	2ª neoplasia
12		Carcinoma basocelular	27	Vivo	
13	No	Carcinoma mama	27	Vivo	
14	No	Carcinoma escamoso piel	32	Vivo	
15		Carcinoma papilar tiroides	34	Vivo	
16		Melanoma	21	Vivo	
17	Sí (aguda I)	Angiosarcoma hepático	22	Muerto	2ª neoplasia
18		Carcinoma folicular tiroides	42	Vivo	
19		Carcinoma papilar tiroides	31	Vivo	

### 8.2.3.1 Neoplasias cutáneas

---

En nuestra serie se han registrado 5 neoplasias cutáneas: 3 carcinomas basocelulares, 1 melanoma y 1 carcinoma escamoso.

#### **Carcinomas basocelulares:**

Caso 1: varón afecto de LAL-B que a los 15 años recibió un Alo-TPH de médula ósea a partir de hermano idéntico, con acondicionamiento basado en CFM y TBI (12,5 Gy; fraccionada) sin depleción linfocitaria y profilaxis de EICH basada en ciclosporina y metotrexate. No había recibido irradiación previa y no presentó EICH aguda ni crónica. Desarrolló múltiples carcinomas basocelulares a los 34 años.

Caso 2: varón afecto de LAM a quien se realizó un auto-TPH a los 7 años de edad, acondicionado con CFM y TBI 12,5 Gy. No había recibido irradiación previa. Presentó múltiples carcinomas basocelulares a partir de los 23 años.

Caso 3: mujer que a los 12 años fue sometida a auto-TPH por una LAM. Recibió TBI 12,5 Gy como parte del régimen de acondicionamiento y no había recibido radioterapia previa. Presentó múltiples carcinomas basocelulares a los 27 años.

#### **Carcinoma escamoso:**

Se trata de un paciente varón diagnosticado de anemia de Fanconi que a los 12 años realizó un alo-TPH de médula ósea a partir del hermano HLA idéntico. La dosis de irradiación como parte del régimen de preparación fue inferior a 10 Gy y localizada a nivel toraco-abdominal. No había recibido otros tipos de irradiación previamente. Presentó un carcinoma escamoso cutáneo a nivel del labio a la edad de 32 años.

#### **Melanoma:**

Paciente varón con diagnóstico de LAL-B que a los 14 años realizó un auto-TPH, acondicionado con CFM y TBI 12,5 Gy. Presentó un melanoma cutáneo a los 21 años.

Como vemos, todos los pacientes recibieron TBI como parte del acondicionamiento y nadie había recibido radioterapia previa. En los casos de carcinomas basocelulares el tiempo de latencia fue de 19, 16 y 15 años; los tres

pacientes desarrollaron múltiples lesiones. Hemos observado 1 caso de carcinoma escamoso en un paciente con anemia de Fanconi con un tiempo de latencia desde el trasplante de 20 años. Sabemos que los pacientes con anemia de Fanconi presentan un riesgo aumentado de segundas neoplasias y en particular de tumores escamosos de piel, por lo que es difícil saber cuánto factores relacionados con el trasplante hayan podido influir en su desarrollo.

A diferencia de las otras neoplasias cutáneas el caso de melanoma se ha desarrollado después de una latencia más breve, de sólo 7 años.

Todos los pacientes siguen vivos.

### 8.2.3.2 Carcinomas de tiroides

---

En nuestra cohorte se han observado 3 casos de carcinoma de tiroides.

Caso 1: paciente varón afecto de Linfoma de Hodgkin que a la edad de 12 años recibió un auto-TPH acondicionado con quimioterapia (etoposido, melfalan, tiotepa). El paciente había recibido radioterapia torácica (intensidad 12,5-20 Gy) como tratamiento del linfoma. Desarrolló un carcinoma tiroideo papilar a 34 años y sigue vivo.

Caso 2: paciente varón de 13 años sometido a auto-TPH por un linfoma no Hodgkin. El régimen de acondicionamiento incluyó TBI (12,5 Gy, fraccionada) y CFM. Previamente había recibido también radioterapia torácica a una intensidad superior a 20 Gy. Se diagnosticó de carcinoma folicular de tiroides a la edad de 42 años. Sigue vivo.

Caso 3: paciente mujer afectada de tumor sólido sometida a la edad de 3 años a auto-TPH acondicionado únicamente con quimioterapia (CFM + otros QT). Tampoco recibió radioterapia previamente. La edad del segundo tumor (carcinoma papilar tiroideo) fue 31 años. Actualmente está en buena salud.

Como podemos observar el tiempo de latencia para la aparición del carcinoma de tiroides fue superior a 20 años en los tres pacientes (22, 29 y 28 años respectivamente). Dos pacientes habían recibido radioterapia en dos ocasiones: a nivel de tórax como tratamiento del linfoma y posteriormente en forma de TBI durante el acondicionamiento del TPH. La tercera paciente, por otro lado no

recibió en ningún momento radioterapia. Los tres pacientes habían sido sometidos a auto-TPH.

### 8.2.3.3 *Neoplasias ginecológicas*

---

En nuestra serie 2 pacientes han desarrollado una neoplasia de mama y 1 paciente una neoplasia uterina.

#### **Neoplasias mama:**

Caso 1: la paciente recibió a la edad de 10 años un alo-TPH de médula ósea a partir de hermano HLA idéntico, por un diagnóstico de LAM. No había recibido radioterapia como tratamiento de su enfermedad. El acondicionamiento del TPH se basó en CFM y TBI (dosis total 12,5 Gy; fraccionada). La profilaxis de EICH se basó en ciclosporina y metotrexate. La paciente presentó EICH aguda de grado total I y posteriormente EICH crónica cutánea en forma extensa. Esta paciente presentó un carcinoma de mama a la edad de 26 años, siendo el tiempo de latencia para su desarrollo de 16 años. Actualmente en remisión de la segunda neoplasia.

Caso 2: paciente afecta de LAL-B que a la edad de 5 años fue sometida a un alo-TPH de médula ósea a partir de hermano HLA idéntico, con acondicionamiento basado en CFM y TBI (12,5 Gy, fraccionada). No había recibido radioterapia previamente al TPH. La paciente no presentó EICH aguda o crónica. Desarrolló un carcinoma mamario, después de 12 años del TPH, a la edad de 27 años. Actualmente sigue viva y en remisión.

#### **Neoplasia de útero:**

Se trata de una paciente afecta de LAL-B que a los 4 años recibió un alo-TPH de médula ósea a partir del hermano HLA idéntico. No recibió radioterapia durante el tratamiento mientras que el acondicionamiento del trasplante incluyó CFM y TBI (12,5 Gy; fraccionada). La paciente presentó EICH aguda grado II y EICH crónica a nivel de piel en forma extensa. A los 21 años (tiempo latencia de 17 años) fue diagnosticada de neoplasia uterina tipo PNET. Actualmente sigue viva y en remisión.

#### 8.2.3.4 Sarcomas

---

En nuestra población se han registrado 3 casos de sarcoma post-TPH.

Caso 1: varón afecto de Tumor de Wilms que recibió a la edad de 4 años un auto-TPH acondicionado con quimioterapia sin TBI (carboplatino, etoposido y melfalan). Para el tratamiento de la enfermedad de base había sido sometido previamente a radioterapia holocraneal con intensidad 12,5-20 Gy. El paciente desarrolló a los 12 años un osteosarcoma de calota craneal y murió debido a la segunda neoplasia.

Caso 2: mujer que a los 4 años recibió un auto-TPH con régimen de preparación basado en CFM (sin TBI) por un neuroblastoma a nivel de sacro. Había recibido radioterapia en la sede del tumor (12,5-20 Gy). Presentó un osteosarcoma a nivel sacro-ilíaco a los 25 años y falleció por la segunda neoplasia.

Caso 3: varón afecto de aplasia medular adquirida que fue sometido a la edad de 8 años a un alo-TPH de médula ósea de donante no emparentado. El acondicionamiento se basó en CFM e irradiación toraco-abdominal (TAI, <10 Gy), con depleción linfocitaria in vivo basada en ATG. La profilaxis de EICH se basó en ciclosporina y metotrexate. Presentó EICH aguda grado I y no crónica. Desarrolló un angiosarcoma a nivel hepático a los 22 años y murió a los pocos meses después del diagnóstico a causa de la progresión del segundo tumor.

Los tres pacientes habían recibido radioterapia en algún momento de la enfermedad: los dos primeros recibieron irradiación a dosis altas y presentaron el sarcoma en la zona de irradiación; el tercer paciente había recibido irradiación TAI (<10 Gy) durante el TPH. El tiempo de latencia fue de 8, 21 y 14 años respectivamente. Se trata de neoplasias agresivas que para los tres pacientes representaron la causa de éxitus.

#### 8.2.3.5 Neoplasia cerebral

---

Hemos registrado 1 caso de neoplasia cerebral post trasplante: se trata de una niña que a los 6 años fue sometida a alo-TPH de hermano HLA idéntico a causa de una LAL-B. Durante el tratamiento de la enfermedad había recibido radioterapia holocraneal a dosis 12,5-20 Gy. El acondicionamiento del trasplante también incluyó TBI 12,5 Gy y no se realizó depleción linfocitaria. No presentó EICH aguda o crónica. Después de una latencia de 7 años la niña desarrolló un glioma cerebral de alto grado que fue el motivo de su fallecimiento.

#### 8.2.3.6 Neoplasias digestivas

---

En nuestra serie 1 paciente desarrolló una segunda neoplasia digestiva: se trata de un varón que a los 11 años fue sometido a un auto-TPH como tratamiento de consolidación de una LAM. El régimen de preparación incluyó CFM y TBI (12,5 Gy; fraccionada). No había recibido radioterapia previamente. A los 31 años (tiempo de latencia de 20 años) fue diagnosticado de adenocarcinoma de colon y falleció por la segunda neoplasia.

#### 8.2.3.7 Segundas neoplasias hematológicas post-trasplante

---

Hemos observado 2 casos de leucemia aguda post TPH.

Caso 1: varón de 13 años sometido a auto-TPH por una LAL-T. El acondicionamiento se basó en CFM y TBI (12,5 Gy; fraccionada). No recibió radioterapia previa. El paciente fue diagnosticado de una leucemia aguda mieloblástica después de 2,5 meses del trasplante. Murió a causa de la segunda leucemia.

Caso 2: varón de 11 años sometido a auto-TPH por una LAL-T con acondicionamiento basado en CFM y TBI (12,5 Gy; fraccionada) y no había recibido previamente radioterapia. A la edad de 20 años se diagnosticó de leucemia aguda mieloblástica y también este paciente murió a causa de la segunda leucemia.

Los dos casos de LAM post-TPH observados en nuestra serie presentan muchas analogías: misma enfermedad de base, edad similar al TPH, ambos recibieron TBI y no habían recibido previamente radioterapia. La latencia para el desarrollo de la leucemia mieloblastica secundaria es pero muy diferente: el primer paciente presenta la segunda leucemia muy precozmente, a los pocos meses post-TPH, mientras para el segundo paciente el tiempo es notablemente más largo, siendo de 9 años.

#### **8.2.3.8**      *Síndrome linfoproliferativo post-trasplante*

---

En nuestra cohorte hemos observado 1 caso de síndrome linfoproliferativo post-TPH (SLPT).

Se trata de un paciente varón afecto de leucemia mieloblastica aguda que a la edad de 17 años fue sometido a un Alo-TPH a partir de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado. El acondicionamiento se basó en quimioterapia (BU y CFM) y la profilaxis de EICH se realizó con ciclosporina y micofenolato. No presentó EICH aguda o crónica. Desarrolló el síndrome linfoproliferativo en contexto de reactivación por EBV a los 4 meses post-TPH y murió debido a esta complicación.

#### 8.2.4 Análisis univariante

---

Se ha realizado un análisis de las variables que podrían relacionarse con la aparición de la segunda neoplasia maligna: tipo de enfermedad (benigna o maligna), tipo de TPH, radioterapia previa, edad al TPH, TBI durante el acondicionamiento, depleción linfocitaria in vivo, EICH aguda o crónica.

Se ha realizado estudio del riesgo mediante tablas de contingencia y test inferencial de Chi-Cuadrado. Por cada variable se ha facilitado el correspondiente Odds Ratio.

Las variables que se han relacionado con un aumento del riesgo de neoplasia han sido RDT, EICH crónica y TBI.

La TBI se ha asociado con un aumento del riesgo superior a 2 veces aunque sin alcanzar nivel de significación estadística (OR= 2,73;  $p= 0,05$ ).

La RDT se ha relacionado con un aumento del riesgo de 3 veces, siendo estadísticamente significativo (OR= 3,1;  $p= 0,04$ ).

La variable que en nuestra serie se ha asociado con más fuerza a un aumento del riesgo de neoplasia ha sido la EICH crónica (OR= 16;  $p= 0,006$ ).

La asociación de RDT y TBI, y la edad superior o igual a 10 años al momento del trasplante parecen también relacionarse a un cierto aumento del riesgo aunque sin alcanzar significación estadística (OR=2,8 y OR= 1,8 respectivamente;  $p= 0,2$ ). (Tabla 18)

**Tabla 18** Análisis univariante para estimación del riesgo mediante cálculo de Odds Ratio (OR)

Variables	OR	Valor de p	IC 95%
TBI	2,73	0,05	1,0-8,3
RDT	<b>3,1</b>	<b>0,04</b>	1,0-9,2
TBI + RDT	2,3	0,2	0,5-9,2
Edad al TPH < 10 a	0,51	0,2	0,2-1,3
Edad al TPH ≥ 10 a	1,87	0,2	0,7-4,5
EICH aguda	0,5	0,4	0,1-1,8
EICH crónica	<b>16,7</b>	<b>0,006</b>	2,8-98,3
Enfermedad maligna	1,47	1	0,3-6,5
Enfermedad benigna	0,69	1	0,1-2,9
Auto-TPH	0,98	1	0,3-2,5
Alo-TPH	1	1	0,4-2,4
Deplección in-vivo	0,86	1	0,1-4,4

TBI: total body irradiation

RDT: radioterapia

TPH: trasplante progenitores hematopoyéticos

EICH: enfermedad injerto contra el huésped

OR: Odds ratio

IC 95%: Intervalo de confianza del Odds Ratio del 95%

### 8.2.5 Análisis multivariante

Se ha realizado un análisis multivariante mediante modelo de regresión logística binaria y se ha facilitado por cada variable su correspondiente Odds-Ratio. (Tabla 19)

La TBI y la EICH crónica han sido las dos variables que se han relacionado con un aumento del riesgo de forma estadísticamente significativa. La TBI ha aumentado de 4 veces el riesgo de cáncer (OR= 4,3; p= 0,03) y la EICH crónica de más de 15 veces (OR= 15,4; p= 0,000).

La RDT no se ha asociado con aumento del riesgo en este análisis.

**Tabla 19** Análisis multivariante de las variables con posible relación con la aparición de neoplasia maligna

Variables	OR	Valor de p
<b>TBI</b>	<b>4,3</b>	<b>0,03</b>
RDT	0,25	0,6
Edad al TPH $\geq$ 10 a	0,3	0,5
EICH aguda	0,65	0,4
<b>EICH crónica</b>	<b>15,4</b>	<b>0,000</b>

TBI: total body irradiation

RDT: radioterapia

TPH: trasplante progenitores hematopoyéticos

EICH: enfermedad injerto contra el huésped

OR: Odds ratio

## 8.2.6 Análisis exceso de riesgo

---

Se ha analizado el exceso de riesgo de segundas neoplasias mediante la comparación del número de casos observados en nuestra población con los casos esperados en la población general según las tasas específicas de los distintos tipos tumorales, por sexo y por grupos de edad. Para este análisis se han utilizado los datos proporcionados por el registro de tumores de Tarragona. (Anexos 1 y 2)

Utilizando el cálculo de Chi-cuadrado hemos analizado la diferencia del riesgo en nuestra población a estudio, respecto a la población general y el aumento ha sido en todos los tumores y en los diferentes rangos de edad estadísticamente significativo ( $p=0,000$ ), tanto en hombres como en mujeres.

Con el objetivo de tener una muestra más amplia, se ha realizado el mismo test Chi-cuadrado uniendo todos los casos de tumores ( $n=19$ ) observados, comparándolos con la prevalencia de tumores más alta esperada en la población general: también en este caso se ha observado una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,000$ ).

Especificamos con más detalles, en las tablas 20-23, la comparación de incidencia entre los datos del registro de tumores de Tarragona y nuestra población de pacientes sometidos a TPH.

**Tabla 20** Tasa de incidencia de neoplasias malignas en la población general (**hombres**) (por 100.000 habitantes). Se exponen los datos de las neoplasias observadas en nuestro trabajo

TUMOR	Intervalos de edad (años)			
	10-19	20-29	30-39	40-49
Colon	---	---	4,3/100.000	---
Hígado	---	0,4/100.000	---	---
Hueso y cartílago	2/100.000	---	---	---
Melanoma de piel	---	2,7/100.000	---	---
Piel no melanoma	---	6,8/100.000	20,8/100.000	---
Tiroides	---	---	0/100.000	3,3/100.000
Síndromes linfoproliferativos	0/100.000	---	---	---
Leucemia mieloide	1,1/100.000	1/100.000	---	---

**Tabla 21** Número de neoplasias secundarias malignas en nuestra población (**hombres**) (e incidencia por 100 pacientes en cada intervalo de edad)

TUMOR	Intervalos de edad (años) (número pacientes en cada intervalo)			
	10-19 (n=98)	20-29 (n=37)	30-39 (n=25)	40-49 (n=8)
Colon	0	0	1 (4/100)	0
Hígado	0	1 (2,7/100)	0	0
Hueso y cartílago	1 (1/100)	0	0	0
Melanoma de piel	0	1 (2,7/100)	0	0
Piel no melanoma	0	0	2 (8/100)	0
Tiroides	0	0	1 (4/100)	1 (12,5/100)
Síndromes linfoproliferativos	1 (1/100)	0	0	0
Leucemia mieloide	1 (1/100)	1 (2,7/100)	0	0

**Tabla 22** Tasa de incidencia de neoplasias malignas en la población general (**mujeres**) (por 100.000 habitantes). Se exponen los datos de las neoplasias observadas en nuestro trabajo

TUMOR	Intervalos de edad (años)			
	10-19	20-29	30-39	40-49
Hueso y cartílago	---	0,4/100.000	---	---
Piel no melanoma	---	10,4/100.000	---	---
Mama	---	5,4/100.000	---	---
Útero	---	0,2/100.000	---	---
Encéfalo y SNC	1,7/100.000	---	---	---
Tiroides	---	---	9,1/100.000	---

**Tabla 23** Número de neoplasias secundarias malignas en nuestra población (**mujeres**) (e incidencia por 100 pacientes en cada intervalo de edad)

TUMOR	Intervalos de edad (años) (número pacientes en cada intervalo)			
	10-19 (n=66)	20-29 (n=32)	30-39 (n=21)	40-49 (n=0)
Hueso y cartílago	0	1 (3,1/100)	0	0
Piel no melanoma	0	1 (3,1/100)	0	0
Mama	0	2 (6,2/100)	0	0
Útero	0	1 (3,1/100)	0	0
Encéfalo y SNC	1 (1,5/100)	0	0	0
Tiroides	0	0	1 (4,7/100)	0

### 8.2.7 Neoplasias benignas

Hemos registrado 6 casos de neoplasias benignas en nuestra serie: osteocondromas (n=2), cavernoma cerebral (n=1), neurofibromas (n=1), tumor óseo mandibular (n=1), quiste aneurismático óseo (n=1). (Tabla 24).

Dos pacientes habían presentado también una neoplasia maligna (carcinoma basocelular).

La edad mediana de aparición de los tumores benignos ha sido de 24 años (13-40 años) con un tiempo de latencia entre el TPH y la aparición del tumor benigno de 16 años (6-25).

**Tabla 24** Tipología de tumores benignos.

<b>TIPO TUMOR BENIGNO</b>	<b>N (=6)</b>	<b>PRESENCIA DE NEOPLASIA MALIGNA</b>
<b>OSTEOCONDROMAS</b>	2	Sí (1). Ca. basocelular
<b>CAVERNOMA CEREBRAL</b>	1	Sí. Ca. basocelular
<b>NEUROFIBROMAS</b>	1	No
<b>TUMOR ÓSEO MANDIBULAR</b>	1	No
<b>QUISTE ANEURISMÁTICO ÓSEO</b>	1	No



## 9 DISCUSIÓN

Hace 45 años se realizó el primer trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) que consiste en la sustitución del sistema hematopoyético con células progenitoras del propio paciente (TPH autólogo) o de otra persona (TPH alogénico). Hoy en día, el auto-TPH se utiliza para superar el fallo hematopoyético después de altas dosis de quimioterapia para el tratamiento de tumores sólidos o hematopoyéticos. El alo-TPH es utilizado en aplasias congénitas o adquiridas, inmunodeficiencias, errores congénitos del metabolismo, talasemias o más frecuentemente para aprovechar el efecto injerto contra tumor de las células alogénicas contra tumores hematológicos de alto riesgo.

Actualmente, la supervivencia a corto plazo ya no es la única preocupación después de un trasplante de progenitores hematopoyéticos dado que, gracias a los avances en los tratamientos de soporte, muchos pacientes pueden superar las complicaciones agudas del procedimiento y quedar libres de enfermedad durante muchos años. Desafortunadamente la curación o el control de la enfermedad de base no siempre se acompañan a la plena restauración de la salud. Seguramente, consecuencias fisiológicas a largo plazo después de un trasplante incluyen disfunciones orgánicas y tisulares no malignas, cambios en la calidad de vida, infecciones relacionadas con una reconstitución inmunológica retardada o anormal.

Diversos estudios han evidenciado también que esta población de pacientes presenta un riesgo aumentado de desarrollar segundos tumores que representan una importante causa de mortalidad tardía. El compromiso del sistema inmunitario y el tratamiento quimioterápico y radioterápico recibidos previamente al TPH podrían estar relacionados con el desarrollo de una neoplasia.

Una limitación de muchos estudios publicados sobre segundas neoplasias post trasplante es que pocos se basan únicamente en la población pediátrica y hay poca comparación con los datos en adultos. Entre los pocos estudios pediátricos destacan: el estudio de Curtis et al del 1997,<sup>223</sup> en el cual se observó que en

niños de edad inferior a 10 años el riesgo de segunda neoplasia era 36,6 veces superior de lo esperado, y el trabajo de Socié et al del 2000,<sup>231</sup> limitado a niños con leucemia aguda sometidos a trasplante, en el cual el riesgo era 45 veces más alto a lo esperado. En ambos estudios el riesgo de segunda neoplasia fue inversamente relacionado con la edad.

Nuestro estudio analiza la evolución a largo plazo de 371 pacientes sometidos en edad pediátrica a un trasplante de progenitores hematopoyético entre 1984 (año de inicio del programa continuado de trasplante hematopoyético pediátrico en nuestro Centro) y 2013, con el objetivo fundamental de evaluar la incidencia de segundas neoplasias. Se trata de un estudio observacional, retrospectivo, analítico y descriptivo. En total se han evaluado 434 trasplantes hematopoyéticos y el periodo de seguimiento ha sido de 30 años. El largo seguimiento constituye un importante factor en este estudio dado que la incidencia de segundas neoplasias aumenta con los años.

La edad mediana de los pacientes al trasplante en nuestra cohorte fue de 8,4 años (0,1-20). El motivo del trasplante fue una enfermedad maligna en 317 pacientes (85,4%) y una enfermedad benigna en 54 casos (14,6%).

Se incluyen 234 TPH autólogos (53,9%) y 200 TPH alogénicos (46,1%). Un total de 63 pacientes recibieron más de un trasplante: 58 pacientes recibieron 2 TPH y 5 pacientes fueron sometidos a 3 TPH. El régimen de acondicionamiento se basó en radioterapia corporal total (total body irradiation, TBI) asociada principalmente a ciclofosfamida en el 48,2 % de trasplantes (n=209). Un régimen basado únicamente en quimioterápicos fue usado para enfermedades benignas y para la mayoría de tumores sólidos (n=218; 50,2%). Siete pacientes no recibieron tratamiento de acondicionamiento.

Un total de 58 pacientes habían recibido radioterapia antes del trasplante por su enfermedad de base: 47 pacientes a dosis 12,5-20 Gy y 11 pacientes a dosis superiores a 20 Gy.

En nuestra cohorte hemos observado 19 casos de segundas neoplasias malignas a 30 años de seguimiento. La incidencia acumulada de segundas neoplasias malignas ha sido de 6% a 15 años, 12% a 20 años, y 36% a 30 años. Estas tasas confirman que la incidencia de segundos tumores malignos aumenta

progresivamente con los años. Los valores correspondientes en la población general serían 0,2%, 0,3% y 0,7% respectivamente (datos según el *Registre de Càncer de Tarragona*). Nuestros porcentajes han sido similares a los reportados en las series publicadas, donde pero normalmente el máximo de seguimiento es de 20 años por lo que nuestro largo seguimiento (30 años) nos permite evidenciar mayormente el tiempo de latencia de los tumores: en nuestra serie, entre los 20 y 30 años de seguimiento, la incidencia de neoplasias se ha triplicado, con un tiempo de latencia mediano entre el TPH y el diagnóstico de la segunda neoplasia de 15,6 años (0-28 años).

La edad mediana de los pacientes a la aparición de la segunda neoplasia ha sido 25 años (11-42).

Entre los 19 pacientes que presentaron una segunda neoplasia, 11 de ellos habían recibido un trasplante autólogo y 8 un trasplante alogénico. Un paciente había recibido 2 alo-TPH.

En la literatura las segundas neoplasias, descritas después de un trasplante hematopoyético, pertenecen a tres categorías: tumores sólidos, neoplasias hematológicas (síndrome mielodisplásico relacionado con el tratamiento y leucemia mieloblastica aguda) y síndrome linfoproliferativo post trasplante (SLPT).

En nuestra serie los tumores sólidos han sido los más prevalentes, representando el 84% de los casos (n=16). Para tumores sólidos, la incidencia reportada en grandes series (más de 19.000 pacientes) ha sido entre 1%-6% a los 10 años y 2%-15% a los 15 años.<sup>223</sup> En el más amplio estudio realizado hasta ahora, los investigadores en el Center of International Blood and Marrow Transplant research (CIBMTR) y el Fred Hutchinson Cancer Research Center, reunieron una cohorte de 28.874 receptores de trasplante alogénico (adultos y pediátricos) con 189 casos de tumor sólido secundario. La incidencia acumulada fue de 1% a los 10 años, 2,2% a los 15 años y 3,3% a los 20 años después del trasplante. Los receptores de un trasplante alogénico presentaban un riesgo doble de desarrollar una neoplasia sólida respecto a la población general y este riesgo aumentaba con el tiempo. Factores de riesgo resultaron ser: la edad temprana al trasplante, la exposición a la irradiación durante el régimen de acondicionamiento y la enfermedad de injerto contra huésped.<sup>236</sup> En un estudio

europeo, después de 1036 trasplantes consecutivos, la incidencia actuarial de tumores sólidos fue 3,5% a 10 años y 12,8% a 15 años.<sup>228</sup>

Entre los tumores sólidos registrados en nuestra cohorte, en particular han destacado por frecuencia los carcinomas de tiroides y basocelulares, habiendo observado 3 casos de cada tipo. Por frecuencia han seguido los carcinomas de mama (n=2) y osteosarcomas (n=2). De los otros tumores sólidos se ha registrado 1 caso por cada tipo: glioma cerebral, melanoma, neoplasia uterina, carcinoma escamoso cutáneo, carcinoma de colon, angiosarcoma. La edad mediana de aparición para los tumores sólidos ha sido de 27 años (11-42 años) con un tiempo de latencia mediano de 18,5 años (7-28 años). Cinco pacientes fallecieron debido a la segunda neoplasia sólida.

El carcinoma de tiroides es un tumor típicamente radio-inducido, y que se observa sobre todo en pacientes precedentemente irradiados. No obstante, se han descrito series en que el tumor aparece después del TPH en personas que nunca recibieron radioterapia, sugiriendo que puede haber otros mecanismos implicados en su desarrollo. De acuerdo con estas observaciones nosotros también hemos registrado un caso de carcinoma papilar tiroideo en una paciente que no recibió ningún tipo de radioterapia. Por otro lado 2 pacientes habían recibido irradiación torácica a dosis superior a 12,5 Gy en el contexto del tratamiento de un Linfoma no Hodgkin; un paciente además recibió TBI 12,5 Gy durante el acondicionamiento. La aparición del tumor se ha verificado después de una larga latencia: 28, 29 y 22 años respectivamente. Los tres pacientes siguen vivos, confirmando que se trata de tumores de muy buen pronóstico también en las formas secundarias.

Hemos observado 5 casos de tumores malignos cutáneos: carcinoma basocelular (n=3), carcinoma escamoso (n=1) y melanoma (n=1). Todos habían recibido radioterapia durante el régimen de preparación del trasplante. El diagnóstico de base del paciente que presentó el carcinoma escamoso a nivel labial era Anemia de Fanconi, una enfermedad genética que predispone al desarrollo de segundas neoplasias y se caracteriza por una susceptibilidad del individuo a las radiaciones ultravioletas con consiguiente riesgo incrementado de desarrollar tumores cutáneos. El régimen de acondicionamiento se basó en TBI a dosis < 10 Gy y CFM. El tiempo de latencia fue de 10 años.

Múltiples estudios en la literatura han evidenciado como la radioterapia y los rayos ultravioleta se asocian al riesgo de desarrollar un carcinoma basocelular. La membrana basal del epidermis donde se localizan el 70% de las células proliferantes, es la zona más radiosensible de la cutis.<sup>285</sup> Un estudio Japonés sobre los supervivientes de la bomba atómica evidenció como los supervivientes a las radiaciones ionizantes presentaban un aumento del riesgo de carcinomas basocelulares respecto a quien no había sido expuesto con un incremento del riesgo relativo de 1,8 % (90% IC: 0,8 -3,3) y el riesgo aumentaba con el tiempo.<sup>286</sup> Las neoplasias cutáneas (tipo no melanoma) son típicas de la edad avanzada con una edad mediana de aparición de 64 años.<sup>287</sup> Al revés, como demostrado en la serie de Perkins et al.,<sup>267</sup> los supervivientes de un trasplante hematopoyético desarrollan los tumores cutáneos a una edad más joven respecto a la población general, la mayoría a una edad inferior a 30 años. En nuestra cohorte los 3 pacientes que desarrollaron tumores basocelulares presentaban una edad de 23, 27 y 34 años, confirmando una más precoz edad de aparición respecto a lo esperado.

En nuestra serie los tumores hematológicos han representado el 16% de los casos: 2 leucemias agudas mieloblasticas (LAM) y 1 síndrome linfoproliferativo (SLPT). En los tres casos el pronóstico fue adverso, siendo la causa de éxitus. A diferencia de las neoplasias sólidas, el tiempo de latencia para el desarrollo de las neoplasias hematológicas es más breve. En nuestra serie ha sido de 2,5 meses y 9 años para LAM y 4 meses para PTLT.

En la literatura la LAM secundaria se ha relacionado con altas dosis de quimio-radioterapia y con el trasplante hematopoyético autólogo. El riesgo actuarial estimado para LAM después de un auto-TPH en pacientes con linfoma oscila entre 3% y 19,8% en estudios con un tiempo mínimo de seguimiento de 5 años.<sup>280</sup>

De acuerdo con estas observaciones también en nuestra serie los dos pacientes que desarrollaron LAM habían sido sometidos a auto-TPH y habían recibido radioterapia (TBI a 12,5 Gy) durante el acondicionamiento.

En relación al SLPT, la incidencia reportada en amplias series es baja, entre 1% y 1,6%,<sup>282</sup> aunque se asocia en la mayoría de los casos a un pronóstico infausto. El síndrome linfoproliferativo post trasplante se ha asociado a dos factores

principales: la intensa inmunosupresión y en muchos casos, aunque no en todos, la proliferación del virus Epstein-Barr (VEB) después del trasplante.<sup>288</sup> En nuestro caso también se relacionó con la reactivación de VEB.

Entre los 19 pacientes que desarrollaron una segunda neoplasia 17 habían recibido radioterapia. Durante el acondicionamiento 12 pacientes recibieron irradiación corporal total (12,5 Gy) y 2 pacientes radioterapia toraco-abdominal (5 Gy). Dos pacientes que recibieron TBI, habían recibido también radioterapia como tratamiento de la enfermedad de base: un paciente radioterapia holocraneal (19 Gy) y un paciente radioterapia torácica (>20 Gy). Tres pacientes recibieron únicamente radioterapia durante el tratamiento pero no durante el acondicionamiento: un paciente radioterapia holocraneal (19 Gy), un paciente radioterapia abdominal (20 Gy) y un paciente radioterapia de tórax (20 Gy).

Cabe destacar que los dos pacientes que recibieron RDT holocraneal desarrollaron la neoplasia secundaria maligna a nivel craneal: un osteosarcoma de la calota craneal y un glioma cerebral de alto grado, respectivamente. En ambos casos la neoplasia secundaria fue la causa del éxitus.

En nuestra serie la mortalidad entre los pacientes que presentaron una segunda neoplasia ha sido del 42% (n=8). En todos los pacientes la causa de muerte fue la segunda neoplasia maligna (osteosarcoma craneal, glioma cerebral de alto grado, adenocarcinoma del colon, leucemias agudas mieloides, síndrome linfoproliferativo, angiosarcoma, osteosarcoma de sacro).

Para verificar que nuestra población a estudio presentaba una incidencia más alta de tumores malignos respecto a la población general, hemos comparado nuestras tasas de incidencia con las tasas esperadas en la población general en los diferentes intervalos de edad. El número limitado de pacientes no nos permite realizar un estudio estadístico cumpliendo estrictamente las condiciones necesarias de aplicación (número mínimo de casos afectados). Aunque, realizando un análisis tumor a tumor, hemos podido confirmar que en nuestra cohorte la incidencia es muy superior a la esperada, siendo estadísticamente significativa (test de Chi-cuadrado).

Uno de los objetivos de nuestro trabajo era estudiar los factores de riesgo relacionados con la aparición de la segunda neoplasia. En un análisis univariante

los dos factores que se han asociado a un aumento del riesgo han sido la radioterapia recibida antes del trasplante (OR= 3,1; p= 0,046) y la EICH crónica (OR= 16; p= 0,006). La TBI en el análisis univariante demostró una tendencia a un aumento del riesgo sin pero alcanzar la significación estadística (OR= 2,73; p= 0,057); por otro lado se confirmó como factor de riesgo en el análisis multivariante, con un aumento del riesgo 4 veces superior en quien había recibido TBI durante el acondicionamiento del trasplante (OR= 4,3; p= 0,03).

La EICH crónica se confirmó en el análisis multivariante como el factor de riesgo que más se asociaba a un aumento del riesgo (OR= 15,4; p= 0,000). La RDT no se asoció con aumento del riesgo en este análisis. En nuestra serie la EICH aguda no se relacionó con un aumento del riesgo. Estudiamos también otros factores, como el tipo de trasplante, la enfermedad de base, la edad al trasplante, la depleción linfocitaria in-vivo, pero ninguno se relacionó con un aumento del riesgo.

En nuestra serie los dos pacientes que presentaron EICH crónica (cutánea) y posteriormente desarrollaron las segundas neoplasias eran mujeres y presentaron tumores ginecológicos: carcinoma de mama y neoplasia uterina. Habían sido tratadas con tratamiento inmunosupresor durante 2-3 años. En la literatura la EICH crónica se ha asociado a un aumento del riesgo principalmente de tumores escamosos de piel y cavidad oral.<sup>232,228,234</sup> En algunas series ha sido el tratamiento inmunosupresor asociado a la EICH crónica (como ciclosporina o azatioprina) que se ha indicado como factor de riesgo responsable de la segunda neoplasia. La inflamación crónica y la inmunosupresión administrada en este contexto podrían interferir en la reparación tisular, incrementando el riesgo de desarrollo tumoral.

Dos pacientes presentaron además de una neoplasia maligna (en ambos casos un carcinoma basocelular) también neoplasias benignas: osteocondromas múltiples en un paciente y un cavernoma cerebral en el segundo paciente. Los dos pacientes habían recibido TBI durante el acondicionamiento.

En nuestra serie hemos registrado también 4 pacientes que presentaron únicamente una neoplasia benigna: osteocondromas (n=1), neurofibromas (n=1), tumor óseo mandibular (n=1), quiste aneurismático óseo (n=1). Entre ellos 2 pacientes habían recibido TBI durante el régimen de acondicionamiento: el

paciente que desarrolló osteocondromas y el paciente que presentó neurofibromas múltiples. En el paciente que desarrolló múltiples neurofibromas cutáneos se realizó el estudio genético para neurofibromatosis que fue negativo. La edad mediana de aparición de los tumores benignos ha sido de 24 años (13-40 años). La mediana de tiempo de latencia entre el TPH y la aparición del tumor benigno ha sido de 16 años (1-31).

Los 2 casos de osteocondromas se diagnosticaron a partir de una clínica de deformación ósea. En ambos casos los pacientes habían sido sometidos a trasplante autólogo a la edad de 7 años y habían recibido TBI en el régimen de preparación.

Los osteocondromas son los tumores óseos benignos más frecuentes que se presentan principalmente en niños y adolescentes con una incidencia de 1-3%. Se ha observado un aumento de la incidencia en niños tratados con radioterapia local por enfermedades oncológicas, posiblemente en relación con el defecto de crecimiento y daño a nivel de epífisis.<sup>289,290,291</sup> Estudios observacionales han reportado también una incidencia entre 6% y 24% en niños sometidos a un trasplante hematopoyético acondicionado con TBI.<sup>292,293,294</sup> King et al.<sup>295</sup> publicaron en 2014 un estudio retrospectivo unicéntrico con el objetivo de analizar la incidencia y la relación con el tratamiento de radioterapia en niños sometidos a trasplante alogénico. Se trata de una cohorte de 233 pacientes, de los cuales 72 recibieron TBI durante el acondicionamiento. Se identificaron 7 casos de osteocondromas. Todos habían sido sometidos a radioterapia (TBI en 5 casos e irradiación abdominal en 2 casos), con dosis entre 450 cGy y 13,2 Gy. La diagnosis de osteocondroma se realizó a una edad mediana de 11,7 años (5-16 años), con periodo de latencia de 8,6 años después de la radioterapia.

La exposición a la radioterapia a una edad precoz se ha relacionado con cambios esqueléticos, como retraso de crecimiento y formación de osteocondromas. Un posible mecanismo es que la exposición a la radioterapia provoque que la epífisis se quede abierta durante más tiempo, facilitando el desarrollo de los osteocondromas y provocando la desorganización en la placa de crecimiento.<sup>290,291</sup> Se ha sugerido también que el patrón de osteocondromas múltiples después de la TBI, se parece a las formas hereditarias de exostosis múltiples. Estas últimas están causadas por mutaciones en dos genes (EXT1 y

EXT2); la reducción en la función de estos genes resulta en una osificación endocondral defectiva. La exposición a la irradiación podría causar mutaciones en estos genes provocando el desarrollo de múltiples exostosis en pacientes sometidos a TBI.<sup>296,292</sup>

Una serie de 259 pacientes reportada por Bordigoni et al <sup>294</sup> en 2002 evidenció una incidencia acumulada de osteocondromas del 20% (n=8) en niños con edad inferior a 18 años en el momento del trasplante. En la análisis univariante un aumento del riesgo fue asociado únicamente con el trasplante autólogo: la probabilidad de osteocondromas a 6, 10 y 12 años post TPH fue de 6% y 0%, 20% y 13%, 32% y 13%, respectivamente para auto y alo-TPH. No se vio un aumento del riesgo según tipo de acondicionamiento (TBI vs Busulfan), tipo de enfermedad de base o si habían recibido tratamiento con hormona del crecimiento.

En 2009 el grupo italiano AEIOP-HSCT publicó una revisión multicéntrica incluyendo 1632 niños sometidos a trasplante hematopoyético.<sup>297</sup> La incidencia acumulada de osteocondromas resultó ser 0,5%, 3% y 6% respectivamente a 5, 10 y 15 años post-TPH. Los factores de riesgo estadísticamente significativos fueron la edad temprana al TPH ( $\leq 3$  años), el acondicionamiento basado en TBI, el trasplante autólogo y el sexo masculino. En particular la TBI aumentaba el riesgo de casi 33 veces respecto a quien no la había recibido.



## 10 CONCLUSIONES

### Objetivo principal:

**Estudiar la incidencia de neoplasias secundarias en los pacientes sometidos a TPH en edad pediátrica.**

1. En nuestra serie de 371 pacientes, hemos observado 19 neoplasias secundarias post-TPH, que corresponde a una incidencia del 5,1%, siendo significativamente más alta de lo esperado ( $p=0,000$ ).
2. La incidencia acumulada de neoplasias secundarias post-TPH ha sido de 6%, 12% y 36% a 15, 20 y 30 años respectivamente.

### Objetivos secundarios:

**Establecer los factores de riesgo para el desarrollo de una neoplasia secundaria post-TPH.**

3. La EICH crónica se asocia a mayor riesgo, tanto en el estudio univariante ( $OR=16$ ;  $p=0,006$ ) como en el multivariante ( $OR=15,4$ ;  $p=0,000$ ).
4. La RDT se asocia a mayor riesgo, sólo en el análisis univariante ( $OR=3,1$ ;  $p=0,046$ ).
5. La TBI se asocia a mayor riesgo, sólo en el análisis multivariante ( $OR=4,3$ ;  $p=0,03$ ).

## **Conocer características y evolución de las neoplasias secundarias post-TPH.**

6. Los tumores sólidos han sido las neoplasias secundarias más prevalentes, observadas en 16/19 pacientes lo que supone un 84%.
7. Las neoplasias hematológicas han sido las más precoces en su presentación y las neoplasias de tiroides las más tardías.
8. La evolución ha sido favorable en las neoplasias cutáneas, tiroideas y ginecológicas.
9. La mortalidad se ha observado en 8/19 pacientes lo que supone un 42%, siendo la propia neoplasia la causa del éxitus.

## 11 APLICABILIDAD DE NUESTRO ESTUDIO

A la luz de los resultados obtenidos, sería importante evitar, cuando posible, la irradiación en edad pediátrica y el desarrollo de EICH crónica.

La TBI (en asociación con CFM) ha constituido el “gold estándar” entre los acondicionamientos, durante muchos años. El cambio producido en la última década hacia regímenes menos tóxicos, sin radioterapia, podría suponer también una ventaja en la reducción de las complicaciones a largo plazo como las segundas neoplasias. Necesitaremos más tiempo de seguimiento para estudiar la influencia de los nuevos regímenes de intensidad reducida en el desarrollo de nuevos tumores.

La EICH crónica representa una complicación que no sólo perjudica la calidad de vida de los pacientes sino que también parece asociarse a un aumento del riesgo de segundas neoplasias. Sería importante realizar medidas de prevención que permitieran evitar su aparición en niños (ej. el uso de médula ósea o sangre de cordón umbilical en vez de sangre periférica como fuente de progenitores hematopoyéticos, limitar la celularidad del inoculo, realizar depleción o ajuste linfocitario T...).



## 12 FORTALEZAS Y LIMITACIONES

### **Fortalezas:**

- El largo seguimiento, superior a 30 años, es uno de los principales puntos de fuerza de este estudio dado que la incidencia de segundas neoplasias aumenta progresivamente con los años.
- Hay pocos estudios en la literatura sobre este tema que incluya únicamente la población pediátrica.
- Se ha realizado seguimiento personalizado de todos los pacientes que han recibido un TPH en nuestro centro.

### **Limitaciones:**

- No obstante el alto número de casos de neoplasias secundarias, el número limitado de pacientes en nuestra cohorte no nos permite llegar a conclusiones que puedan ser generalizadas.
- La amplia heterogeneidad en los tratamientos quimioterápicos recibidos en tumores sólidos y leucemias a lo largo de los años no nos permite realizar un análisis exacto de la influencia del tratamiento recibido previamente al trasplante sobre el riesgo de segundas neoplasias.
- No se ha estudiado la influencia de otros factores exógenos (tabaquismo, alcohol, obesidad, tratamiento hormonal...etc) o genéticos que podrían tener un papel en la oncogénesis.



## 13 ANEXOS

En los Anexos 1 y 2 se detallan las Tasas de incidencia (de 10 años) específicas por edad de los distintos tipos tumorales, por sexo y por grupos de edad, de la población de la provincia de Tarragona del período 2002-2011 (diez años para asegurar al máximo la estabilidad de las tasas de los tumores infrecuentes). Las tasas se refieren a 100.000 habitantes (hombres, mujeres o personas, según la tabla).

*Fuente: Registre de Càncer de Tarragona, Fundació Lliga per a la Investigació i Prevenció del Càncer, Reus (Tarragona).*

## ANEXO 1

TASAS ESPECÍFICAS POR EDAD EN HOMBRES, TARRAGONA, 2002-2011									
TUMOR	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80+
Labio	0	0	0	0,2	1,1	4,4	11,1	25,5	39,3
Lengua	0	0	0,2	0,9	5,1	9,9	14,7	13,5	6,9
Cavidad oral	0	0	0	0,2	3,9	10,7	14,7	10	11,9
Glándulas salivales	0	0,3	0,2	0,3	0,5	1,9	0,9	5,3	15,2
Amígdala	0	0	0	0,2	1,4	6,4	8,6	4,2	2,7
Otras orofaringe	0	0	0	0	1,8	4,9	5,6	4,9	2,6
Nasofaringe	0	0,3	0,5	0,5	1,9	1,4	2,3	1,7	3,3
Hipofaringe	0	0	0	0,3	3,5	9,2	10,7	7	5
Faringe y boca no especificado	0	0	0	0	0	1,5	0,9	1,3	0,7
Esófago	0	0	0	0,3	4,6	17,2	24,2	24,4	26,5
Estómago	0	0	0,2	1,7	9	18,7	42,2	80,2	112,3
Intestino delgado	0	0	0	0,4	0,9	2,3	3	3,8	8,3
<b>Colon</b>	0	0	1,1	4,3	16,8	64,7	153,1	285,9	400,9
Recto	0	0	0,7	1,8	9,6	39,2	86,5	137,8	158,4
Ano	0	0	0	0,2	1,1	2,6	1,5	5	13,2
<b>Hígado</b>	0,8	0,3	0,4	0,9	8,2	18,8	50,2	66	63,8
Vesícula biliar y vías	0	0	0	0,2	1,6	3,9	9,3	26	42,3
Páncreas	0	0	0	1,2	5	15,1	38,6	53	84,9
Cavidades nasales y senos	0,3	0	0,2	0,4	1,3	0,5	2,6	3,8	3,3
Laringe	0	0	0	1,5	11	36,7	45	49,5	30,4
Tráquea, bronquios y pulmón	0	0,5	0,7	3	34,5	128,2	269	399,5	405
Otros órganos torácicos	0,5	0,3	0,2	0,1	1,1	2	2,4	2,9	3,6
<b>Hueso y cartílago</b>	0,5	2	1,8	0,2	0,4	1,1	0,9	1,2	3,3
Mesotelioma	0	0	0	0,1	0,2	1,5	3,9	4	3,6
Sarcoma de Kaposi	0	0	0,4	1,1	1,2	1,1	1,4	2,6	1,3
Tejidos blandos	1,3	1,1	1,1	1,2	1,3	2,9	5	7,9	20,1
<b>Melanoma de piel</b>	0,3	1,1	2,7	5,7	8,6	15,2	23,2	37,6	38,3
<b>Piel no melanoma</b>	0,3	1,1	6,8	20,8	64	169,1	445,8	887,9	1414,2
Mama	0	0	0	0	0,5	1,6	2,1	8	6,3
Pene	0	0	0,2	0	0,5	2,9	5	9,6	16,2
Próstata	0	0	0,2	0	6,8	95,9	423,6	754,7	584,3
Testículo	0	1,4	11,5	12,7	2,8	1,7	0,6	0,8	1,7
Otros órganos genitales masculinos	0	0	0	0	0	0	0,3	1,5	1,3
Riñón	1	0	0,2	2,5	7,8	21,9	29,8	56,8	60,2
Pelvis renal	0	0	0	0,2	0,7	1,3	6	6,8	4
Ureter	0	0	0	0	0,2	0,2	3,9	6,3	6
Vejiga Urinaria	0	0	0,4	2,4	18,8	78,6	190,4	332,9	407,6
Otros órganos urinarios	0	0	0,2	0	0,8	1,4	3,3	4,8	5,6
Ojo	1,3	0	0	0	0,8	1,1	1,8	1,3	6,3
Encéfalo y sistema nervioso	3,3	1,9	3,3	2,2	5	13,6	20,5	32,1	24,8
<b>Tiroides</b>	0	0,8	1,3	1,8	3,3	4,2	4,1	4,2	4
Glándula adrenal	0,5	0	0,2	0	0,2	0,6	1,2	0,5	0
Otras glándulas endocrinas	0,2	0,3	0,5	0	0,2	0,2	0,6	0	0
Linfoma hodgkiniano	0,5	2,4	4,7	3,4	3	2,9	2,2	2,6	2
Linfoma no hodgkiniano	3	3,3	2,6	8,2	12,6	20,7	39,8	58,7	66,5
<b>Enfermedades inmunoproliferativas</b>	0,3	0	0	0,1	0	0,9	2,3	0,8	7,3
Mieloma múltiple	0	0	0	0,4	1	4	16,5	30,3	44,9
Leucemia linfoide	4,3	1,4	0,7	0,8	3,1	6,2	15,8	25,2	38,3
<b>Leucemia mieloide</b>	0,8	1,1	1	1,6	3,6	7,4	11,6	21,8	45,3
Leucemia no especificada	0	0	0	0,3	0	0,2	0,3	1,8	14,2
No especificado (total)	0,3	0	0	1,1	3,8	12,5	19,1	48,9	118,5
Todas	19,4	19,8	44	86,2	277	876,2	2092,8	3603,2	4445,1
<b>Todas excepto piel no melanoma</b>	<b>19,1</b>	<b>18,6</b>	<b>37,2</b>	<b>65,3</b>	<b>213</b>	<b>707</b>	<b>1646,9</b>	<b>2715,4</b>	<b>3031,7</b>

## ANEXO 2

TASAS ESPECÍFICAS POR EDAD EN MUJERES, TARRAGONA, 2002-2011									
TUMOR	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80+
Labio	0	0	0	0	0,2	0,4	1,8	3,6	5,6
Lengua	0	0,3	0	0,2	1,4	2,5	4,5	3,4	6
Cavidad oral	0	0	0,2	0,7	1,2	1,5	3,5	4,6	9,2
Glándulas salivales	0	0,3	0	0,2	0,4	1,4	1,1	3,1	5,4
Amígdala	0	0	0	0	0,8	0,9	0	0,2	0,5
Otras orofaringe	0	0	0	0	0	0,2	1,5	0,4	0
Nasofaringe	0	0,6	0	0,5	0,2	0,2	1,4	0	0
Hipofaringe	0	0	0	0	0,2	0	0,3	0	1
Faringe y boca no especificado	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Esófago	0	0	0	0	0,2	1,6	3,2	2,2	7,2
Estómago	0	0	0,2	3,1	2,9	10,3	14	32,9	54,3
Intestino delgado	0	0	0	0	0,4	1,1	0,9	5,1	2,4
Colon	0	0	0,9	5	16,3	44,9	97,8	162	215,8
Recto	0	0,3	0,2	2,2	7,1	16,2	28,3	65,2	70,9
Ano	0	0	0	0,5	1	1,1	1,5	1,8	6
Hígado	0,3	0	0	0,7	1,1	4,3	9,6	26	43,9
Vesícula biliar y vías	0	0	0	0,3	0,8	4	8,3	19,2	32,4
Páncreas	0	0	0,2	0,7	1,9	8,6	28,3	47,1	80,7
Cavidades nasales y senos	0	0	0	0,2	0	0,4	1,5	1,3	1,4
Laringe	0	0	0	0	1,3	2,3	2,3	3,5	0,5
Tráquea, bronquios y pulmón	0	0	0,6	2,6	11,7	28,3	34,5	46,3	49,1
Otros órganos torácicos	0,3	0	0	0,3	0,2	0,7	1,1	0,9	1,8
Hueso y cartilago	0	1,1	0,4	1	0,8	0,7	0,9	0	1,8
Mesotelioma	0	0	0	0,3	0	0,7	0,3	3	2,9
Sarcoma de Kaposi	0	0	0	0	0,2	0	0	0,4	1,5
Tejidos blandos	1,4	0,6	0,7	1,5	1,4	2,7	3,8	6,2	8,4
Melanoma de piel	0	0,9	2,9	8,7	12,2	17,9	23,6	22,9	20,7
Piel no melanoma	0	2	10,4	38,8	91,1	160,8	293,8	497,9	787,2
Mama	0	0,3	5,4	42,5	153,2	210,1	238	221,1	263,4
Vulva	0	0	0	0,9	0,8	0,9	5,9	12	22,6
Vagina	0	0	0	0	0,2	0,5	0,6	1,1	1,9
Cuello uterino	0	0	3,7	15,8	17,4	16,4	13,7	14,8	11,9
Cuerpo uterino	0	0	0,2	2,7	7,8	40,3	61,3	64,1	52,5
Útero SAI	0	0	0,2	0	1,5	0,9	2,1	3	7,3
Ovario	0	0,9	2,6	2,9	11,4	24,9	25,7	32,6	33,1
Otros órganos genitales femeninos	0	0	0	0	0,2	0,9	2,4	2,2	4,5
Placenta	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0
Riñón	1,4	0	0,2	1,4	3,7	10,9	17,2	18,8	28,8
Pelvis renal	0	0	0	0	0	0	0,9	3,3	3,3
Ureter	0	0	0	0	0	0	0,8	2,1	1,4
Vejiga Urinaria	0	0	0,2	1	5,4	8,3	15,3	42,8	64,4
Otros órganos urinarios	0	0	0	0,2	0	0	0	0,9	0,5
Ojo	0,5	0	0	0,3	0,6	1,2	1,4	3,3	2,5
Encéfalo y sistema nervioso	2,1	1,7	1,9	2,2	5,3	9,3	15,3	22,5	16,9
Tiroides	0	1,2	6	9,1	13	13,1	11,6	8,8	5,8
Glándula adrenal	0,5	0	0	0	0,4	0,4	0,9	0	1,9
Otras glándulas endocrines	0	0	0,4	0,5	0,6	0,5	0,6	0,9	1
Linfoma hodgkiniano	0,5	2,6	5,3	3,4	1,5	1,4	3,1	2,5	0,5
Linfoma no hodgkiniano	0,8	2,3	3,6	4,7	7,4	16	28,6	41,3	48,2
Enfermedades inmunoproliferativas	0	0	0	0	0,2	0,2	0,9	1,6	1,5
Mieloma múltiple	0	0	0	0,2	1	5	14,4	21,5	29,4
Leucemia linfoide	3,2	2,1	0,8	0,7	0,4	4,2	7,9	16,3	22,8
Leucemia mieloide	0,5	1,4	0,4	2	3,8	5,1	8	18,4	15,5
Leucemia no especificada	0	0	0,2	0	0,2	0,5	0,3	2	10,9
No especificado (total)	1,4	0,3	0,4	1,5	3,9	8,1	12,2	31,1	87,9
Todas	12,9	18,8	48,7	160,6	397	696,8	1066,5	1579,5	2205,4
Todas excepto piel no melanoma	12,9	16,8	38,3	121,8	305,8	535,8	772,7	1081,8	1418,8



## 14 BIBLIOGRAFÍA

1. Lupu M, Storb R. Five decades of progress in hematopoietic cell transplantation based on the preclinical canine model. *Vet Comp Oncol.* 2007;5(1):14-30. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00114.x.
2. Thomas ED, LeBlond R, Graham T, Storb R. Marrow infusions in dogs given midlethal or lethal irradiation. *Radiat Res.* 1970;41(1):113-124.
3. Ferrebee JW, Lochte HL, Jaretski A, Sahler OD, Thomas ED. Successful marrow homograft in the dog after radiation. *Surgery.* 1958;43(3):516-520.
4. Mannick JA, Lochte HL, Ashley CA, Thomas ED, Ferrebee JW. Autografts of bone marrow in dogs after lethal total-body radiation. *Blood.* 1960;15:255-266.
5. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous Infusion of Bone Marrow in Patients Receiving Radiation and Chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957;257(11):491-496. doi:10.1056/NEJM195709122571102.
6. Thomas ED, Lochte HL, Cannon JH, Sahler OD, Ferrebee JW. SUPRALETHAL WHOLE BODY IRRADIATION AND ISOLOGOUS MARROW TRANSPLANTATION IN MAN\*. *J Clin Invest.* 1959;38(10 Pt 1-2):1709-1716.
7. Barnes DWH, Loutit JF. Treatment of Murine Leukaemia with X-Rays and Homologous Bone Marrow: II. *Br J Haematol.* 1957;3(3):241-252. doi:10.1111/j.1365-2141.1957.tb05793.x.
8. Bortin MM. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation.* 1970;9(6):571-587.
9. Uphoff DE. Genetic factors influencing irradiation protection by bone marrow. I. The F1 hybrid effect. *J Natl Cancer Inst.* 1957;19(1):123-130.
10. Thomas ED, Collins JA, Herman EC, Ferrebee JW. Marrow transplants in lethally irradiated dogs given methotrexate. *Blood.* 1962;19:217-228.
11. Epstein RB, Storb R, Ragde H, Thomas ED. Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. *Transplantation.* 1968;6(1):45-58.
12. Storb R, Epstein RB, Bryant J, Ragde H, Thomas ED. Marrow grafts by combined marrow and leukocyte infusions in unrelated dogs selected by histocompatibility typing. *Transplantation.* 1968;6(4):587-593.
13. Storb R, Rudolph RH, Thomas ED. Marrow grafts between canine siblings matched by serotyping and mixed leukocyte culture. *J Clin Invest.* 1971;50(6):1272-1275. doi:10.1172/JCI106605.
14. Storb R, Epstein RB, Le Blond RF, Rudolph RH, Thomas ED. Transplantation of allogeneic canine bone marrow stored at -80 degrees C in dimethyl sulfoxide. *Blood.* 1969;33(6):918-923.
15. Thomas ED, Buckner CD, Rudolph RH, et al. Allogeneic marrow grafting for hematologic malignancy using HL-A matched donor-recipient sibling pairs. *Blood.* 1971;38(3):267-287.

16. Thomas ED, Storb R, Clift RA, et al. Bone-Marrow Transplantation. *N Engl J Med.* 1975;292(16):832-843. doi:10.1056/NEJM197504172921605.
17. Thomas ED. *The Nobel Lectures in Immunology. The Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1990. Bone marrow transplantation--past, present and future.* *Scand J Immunol.* 1994;39(4):339-345.
18. Till JE, McCULLOCH EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res.* 1961;14:213-222.
19. Debelak-Fehir KM, Catchatourian R, Epstein RB. Hemopoietic colony forming units in fresh and cryopreserved peripheral blood cells of canines and man. *Exp Hematol.* 1975;3(2):109-116.
20. Cavins JA, Kasakura S, Thomas ED, Ferrebee JW. Recovery of lethally irradiated dogs following infusion of autologous marrow stored at low temperature in dimethylsulphoxide. *Blood.* 1962;20:730-734.
21. Appelbaum FR. Hemopoietic reconstitution following autologous bone marrow and peripheral blood mononuclear cell infusions. *Exp Hematol.* 1979;7 Suppl 5:7-11.
22. Cavins JA, Scheer SC, Thomas ED, Ferrebee JW. THE RECOVERY OF LETHALLY IRRADIATED DOGS GIVEN INFUSIONS OF AUTOLOGOUS LEUKOCYTES PRESERVED AT -80 C. *Blood.* 1964;23:38-42.
23. Körbling M, Flidner TM, Calvo W, Ross WM, Nothdurft W, Steinbach I. Albumin density gradient purification of canine hemopoietic blood stem cells (HBSC): long-term allogeneic engraftment without GVH-reaction. *Exp Hematol.* 1979;7(6):277-288.
24. Gerhartz HH, Nothdurft W, Carbonell F, Flidner TM. Allogeneic transplantation of blood stem cells concentrated by density gradients. *Exp Hematol.* 1985;13(2):136-142.
25. Storb R, Epstein RB, Ragde H, Bryant J, Thomas ED. Marrow engraftment by allogeneic leukocytes in lethally irradiated dogs. *Blood.* 1967;30(6):805-811.
26. Appelbaum FR, Herzig GP, Graw RG, et al. Study of cell dose and storage time on engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in a canine model. *Transplantation.* 1978;26(4):245-248.
27. Abrams RA, McCormack K, Bowles C, Deisseroth AB. Cyclophosphamide treatment expands the circulating hematopoietic stem cell pool in dogs. *J Clin Invest.* 1981;67(5):1392-1399.
28. de Revel T, Appelbaum FR, Storb R, et al. Effects of granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor, alone and in combination, on the mobilization of peripheral blood cells that engraft lethally irradiated dogs. *Blood.* 1994;83(12):3795-3799.
29. Sandmaier BM, Storb R, Santos EB, et al. Allogeneic transplant of canine peripheral blood stem cells mobilized by recombinant canine hematopoietic growth factors. *Blood.* 1996;87(8):3508-3513.
30. Burroughs L, Mielcarek M, Little M-T, et al. Durable engraftment of AMD3100-mobilized autologous and allogeneic peripheral-blood mononuclear cells in a canine transplantation model. *Blood.* 2005;106(12):4002-4008. doi:10.1182/blood-2005-05-1937.
31. Buckner D, Eisel R, Perry S. Blood cell separation in the dog by continuous flow centrifugation. *Blood.* 1968;31(5):653-672.
32. Herbst EW, Flidner TM, Calvo W, Schnappauf H, Meyer H. [Collection of hematopoietic stem cells from canine peripheral blood and their ability to regenerate hematopoiesis]. *Blut.* 1975;30(6):265-276.

33. Lee R, Storb R, Little M-T, Joslyn A, Spector M, Kuhr CS. Percutaneous central dual-lumen catheter for apheresis in the canine. *J Investig Surg Off J Acad Surg Res.* 2002;15(6):337-341. doi:10.1080/08941930290086155.
34. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med.* 2006;354(17):1813-1826. doi:10.1056/NEJMra052638.
35. Gyurkocza B, Rezvani A, Storb RF. Allogeneic hematopoietic cell transplantation: the state of the art. *Expert Rev Hematol.* 2010;3(3):285-299. doi:10.1586/ehm.10.21.
36. Martin PJ. The role of donor lymphoid cells in allogeneic marrow engraftment. *Bone Marrow Transplant.* 1990;6(5):283-289.
37. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature.* 1987;329(6139):512-518. doi:10.1038/329512a0.
38. Bjorkman PJ, Parham P. Structure, function, and diversity of class I major histocompatibility complex molecules. *Annu Rev Biochem.* 1990;59:253-288. doi:10.1146/annurev.bi.59.070190.001345.
39. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature.* 1987;329(6139):506-512. doi:10.1038/329506a0.
40. Engelhard VH. Structure of peptides associated with class I and class II MHC molecules. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:181-207. doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.001145.
41. Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC, et al. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature.* 1993;364(6432):33-39. doi:10.1038/364033a0.
42. Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Tissue Antigens.* 2005;65(4):301-369. doi:10.1111/j.1399-0039.2005.00379.x.
43. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000;343(10):702-709. doi:10.1056/NEJM200009073431006.
44. Choo SY. The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. *Yonsei Med J.* 2007;48(1):11-23. doi:10.3349/ymj.2007.48.1.11.
45. Terasaki PI, McClelland JD. MICRODROPLET ASSAY OF HUMAN SERUM CYTOTOXINS. *Nature.* 1964;204:998-1000.
46. White TJ, Arnheim N, Erlich HA. The polymerase chain reaction. *Trends Genet TIG.* 1989;5(6):185-189.
47. Cornelissen JJ, Löwenberg B. Developments in T-cell depletion of allogeneic stem cell grafts. *Curr Opin Hematol.* 2000;7(6):348-352.
48. Beatty PG, Clift RA, Mickelson EM, et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *N Engl J Med.* 1985;313(13):765-771. doi:10.1056/NEJM198509263131301.
49. Schoemans H, Theunissen K, Maertens J, Boogaerts M, Verfaillie C, Wagner J. Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38(2):83-93. doi:10.1038/sj.bmt.1705403.

50. *Anderlini P, Rizzo JD, Nugent ML, et al. Peripheral blood stem cell donation: an analysis from the International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) and European Group for Blood and Marrow Transplant (EBMT) databases. Bone Marrow Transplant. 2001;27(7):689-692. doi:10.1038/sj.bmt.1702875.*
51. *Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2001;19(16):3685-3691.*
52. *Stewart BL, Storer B, Storek J, et al. Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease. Blood. 2004;104(12):3501-3506. doi:10.1182/blood-2004-01-0200.*
53. *Levesque J-P, Liu F, Simmons PJ, et al. Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice. Blood. 2004;104(1):65-72. doi:10.1182/blood-2003-05-1589.*
54. *Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. N Engl J Med. 1989;321(17):1174-1178. doi:10.1056/NEJM198910263211707.*
55. *Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. Blood. 2002;100(5):1611-1618. doi:10.1182/blood-2002-01-0294.*
56. *Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. Blood. 2005;105(3):1343-1347. doi:10.1182/blood-2004-07-2717.*
57. *Vriesendorp HM. Aims of conditioning. Exp Hematol. 2003;31(10):844-854.*
58. *Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. DEFINING THE INTENSITY OF CONDITIONING REGIMENS : working definitions. Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant. 2009;15(12):1628-1633. doi:10.1016/j.bbmt.2009.07.004.*
59. *Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. Blood. 1977;49(4):511-533.*
60. *Santos GW, Tutschka PJ, Broxmeyer R, et al. Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. N Engl J Med. 1983;309(22):1347-1353. doi:10.1056/NEJM198312013092202.*
61. *Hobbs JR, Hugh-Jones K, Barrett AJ, et al. Reversal of clinical features of Hurler's disease and biochemical improvement after treatment by bone-marrow transplantation. Lancet Lond Engl. 1981;2(8249):709-712.*
62. *Tutschka PJ, Copelan EA, Klein JP. Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. Blood. 1987;70(5):1382-1388.*
63. *Lucarelli G, Polchi P, Izzi T, et al. Marrow transplantation for thalassemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. Ann N Y Acad Sci. 1985;445:428-431.*
64. *Khoury IF, Keating M, Körbling M, et al. Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 1998;16(8):2817-2824.*

65. *BALLEN KK, COLVIN G, PORTER D, QUESENBERRY PJ. Low Dose Total Body Irradiation Followed by Allogeneic Lymphocyte Infusion for Refractory Hematologic Malignancy—an Updated Review. Leuk Lymphoma. 2004;45(5):905-910. doi:10.1080/10428190310001628167.*
66. *Mielcarek M, Martin PJ, Leisenring W, et al. Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2003;102(2):756-762. doi:10.1182/blood-2002-08-2628.*
67. *Tauro S, Craddock C, Peggs K, et al. Allogeneic stem-cell transplantation using a reduced-intensity conditioning regimen has the capacity to produce durable remissions and long-term disease-free survival in patients with high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplasia. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2005;23(36):9387-9393. doi:10.1200/JCO.2005.02.0057.*
68. *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(3):756-763.*
69. *Schmid C, Schleuning M, Schwerdtfeger R, et al. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. Blood. 2006;108(3):1092-1099. doi:10.1182/blood-2005-10-4165.*
70. *Crawley C, Szydlo R, Lalancette M, et al. Outcomes of reduced-intensity transplantation for chronic myeloid leukemia: an analysis of prognostic factors from the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT. Blood. 2005;106(9):2969-2976. doi:10.1182/blood-2004-09-3544.*
71. *Robinson SP, Goldstone AH, Mackinnon S, et al. Chemoresistant or aggressive lymphoma predicts for a poor outcome following reduced-intensity allogeneic progenitor cell transplantation: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation. Blood. 2002;100(13):4310-4316. doi:10.1182/blood-2001-11-0107.*
72. *Laine AM, Pompos A, Timmerman R, et al. The Role of Hypofractionated Radiation Therapy with Photons, Protons, and Heavy Ions for Treating Extracranial Lesions. Front Oncol. 2016;5. doi:10.3389/fonc.2015.00302.*
73. *Dessauer, F. Beiträge Zur Bestrahlung Tiefliegender Prozesse. Med. Klin. 1905;1:526–529. Dessauer.*
74. *Coutard H. Roentgen Therapy of Epitheliomas of the Tonsillar Region, Hypopharynx and Larynx from 1920 to 1926\*. AJR Am J Roentgenol (1932) 28:313–31.*
75. *D'angio GJ, Farber S, Maddock CL. Potentiation of x-ray effects by actinomycin D. Radiology. 1959;73:175-177. doi:10.1148/73.2.175.*
76. *Kolb HJ, Rieder I, Bodenberger U, et al. Dose rate and dose fractionation studies in total body irradiation of dogs. Pathol Biol (Paris). 1979;27(6):370-372.*
77. *Deeg HJ, Storb R, Weiden PL, et al. High-dose total-body irradiation and autologous marrow reconstitution in dogs: dose-rate-related acute toxicity and fractionation-dependent long-term survival. Radiat Res. 1981;88(2):385-391.*
78. *Deeg HJ, Storb R, Longton G, et al. Single dose or fractionated total body irradiation and autologous marrow transplantation in dogs: effects of exposure rate, fraction size, and fractionation interval on acute and delayed toxicity. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1988;15(3):647-653.*

79. Storb R, Raff RF, Appelbaum FR, et al. Comparison of fractionated to single-dose total body irradiation in conditioning canine littermates for DLA-identical marrow grafts. *Blood*. 1989;74(3):1139-1143.
80. Storb R, Raff RF, Graham T, et al. Marrow toxicity of fractionated vs. single dose total body irradiation is identical in a canine model. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993;26(2):275-283.
81. Deeg HJ, Storb R, Shulman HM, Weiden PL, Graham TC, Thomas ED. Engraftment of DLA-nonidentical unrelated canine marrow after high-dose fractionated total body irradiation. *Transplantation*. 1982;33(4):443-446.
82. Hill-Kayser CE, Plastaras JP, Tochner Z, Glatstein E. TBI during BM and SCT: review of the past, discussion of the present and consideration of future directions. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46(4):475-484. doi:10.1038/bmt.2010.280.
83. Janssen WJ, Muldrow A, Kearns MT, Barthel L, Henson PM. Development and characterization of a lung-protective method of bone marrow transplantation in the mouse. *J Immunol Methods*. 2010;357(1-2):1-9. doi:10.1016/j.jim.2010.03.013.
84. Lan F, Zeng D, Higuchi M, Higgins JP, Strober S. Host conditioning with total lymphoid irradiation and antithymocyte globulin prevents graft-versus-host disease: the role of CD1-reactive natural killer T cells. *Biol Blood Marrow Transpl*. 2003;9(6):355-363. doi:10.1016/S1083-8791(03)00108-3.
85. Majhail NS, Farnia SH, Carpenter PA, et al. Indications for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2015;21(11):1863-1869. doi:10.1016/j.bbmt.2015.07.032.
86. DeLeve LD, Shulman HM, McDonald GB. Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease). *Semin Liver Dis*. 2002;22(1):27-42. doi:10.1055/s-2002-23204.
87. Kallianpur AR, Hall LD, Yadav M, et al. The hemochromatosis C282Y allele: a risk factor for hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35(12):1155-1164. doi:10.1038/sj.bmt.1704943.
88. Srivastava A, Poonkuzhali B, Shaji RV, et al. Glutathione S-transferase M1 polymorphism: a risk factor for hepatic venoocclusive disease in bone marrow transplantation. *Blood*. 2004;104(5):1574-1577. doi:10.1182/blood-2003-11-3778.
89. Bornhauser M, Storer B, Slattery JT, et al. Conditioning with fludarabine and targeted busulfan for transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells. *Blood*. 2003;102(3):820-826. doi:10.1182/blood-2002-11-3567.
90. Hogan WJ, Maris M, Storer B, et al. Hepatic injury after nonmyeloablative conditioning followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation: a study of 193 patients. *Blood*. 2004;103(1):78-84. doi:10.1182/blood-2003-04-1311.
91. Cooke KR, Yanik G. Acute lung injury after allogeneic stem cell transplantation: is the lung a target of acute graft-versus-host disease? *Bone Marrow Transplant*. 2004;34(9):753-765. doi:10.1038/sj.bmt.1704629.
92. Meyers JD, Flournoy N, Thomas ED. Nonbacterial pneumonia after allogeneic marrow transplantation: a review of ten years' experience. *Rev Infect Dis*. 1982;4(6):1119-1132.
93. Przepiorcka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15(6):825-828.

94. Cahn J-Y, Klein JP, Lee SJ, et al. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood*. 2005;106(4):1495-1500. doi:10.1182/blood-2004-11-4557.
95. Eapen M, Horowitz MM, Klein JP, et al. Higher mortality after allogeneic peripheral-blood transplantation compared with bone marrow in children and adolescents: the Histocompatibility and Alternate Stem Cell Source Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2004;22(24):4872-4880. doi:10.1200/JCO.2004.02.189.
96. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2001;19(16):3685-3691.
97. Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR, et al. Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood*. 1990;76(9):1867-1871.
98. Jacobsohn DA, Duerst R, Tse W, Kletzel M. Reduced intensity haemopoietic stem-cell transplantation for treatment of non-malignant diseases in children. *Lancet Lond Engl*. 2004;364(9429):156-162. doi:10.1016/S0140-6736(04)16628-2.
99. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med*. 1986;314(12):729-735. doi:10.1056/NEJM198603203141201.
100. Deeg HJ. How I treat refractory acute GVHD. *Blood*. 2007;109(10):4119-4126. doi:10.1182/blood-2006-12-041889.
101. Greinix HT, Knobler RM, Worel N, et al. The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease. *Haematologica*. 2006;91(3):405-408.
102. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation*. 2006;81(10):1390-1397. doi:10.1097/01.tp.0000214462.63943.14.
103. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2003;9(4):215-233. doi:10.1053/bbmt.2003.50026.
104. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*. 2002;100(5):1611-1618. doi:10.1182/blood-2002-01-0294.
105. Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chamard A, et al. Outcome of Cord-Blood Transplantation from Related and Unrelated Donors. *N Engl J Med*. 1997;337(6):373-381. doi:10.1056/NEJM199708073370602.
106. 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 J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2005;11(12):945-956. doi:10.1016/j.bbmt.2005.09.004.
107. Sklar CA. Growth and neuroendocrine dysfunction following therapy for childhood cancer. *Pediatr Clin North Am*. 1997;44(2):489-503.

108. Bakker B, Oostdijk W, Geskus RB, Stokvis-Brantsma WH, Vossen JM, Wit JM. Patterns of growth and body proportions after total-body irradiation and hematopoietic stem cell transplantation during childhood. *Pediatr Res.* 2006;59(2):259-264. doi:10.1203/01.pdr.0000199550.71887.ba.
109. Shalet SM. Irradiation-induced growth failure. *Clin Endocrinol Metab.* 1986;15(3):591-606.
110. Shalet SM, Clayton PE, Price DA. Growth and pituitary function in children treated for brain tumours or acute lymphoblastic leukaemia. *Horm Res.* 1988;30(2-3):53-61.
111. Sanders JE, Guthrie KA, Hoffmeister PA, Woolfrey AE, Carpenter PA, Appelbaum FR. Final adult height of patients who received hematopoietic cell transplantation in childhood. *Blood.* 2005;105(3):1348-1354. doi:10.1182/blood-2004-07-2528.
112. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, et al. Risk of disease recurrence and second neoplasms in survivors of childhood cancer treated with growth hormone: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3136-3141. doi:10.1210/jcem.87.7.8606.
113. Ergun-Longmire B, Mertens AC, Mitby P, et al. Growth hormone treatment and risk of second neoplasms in the childhood cancer survivor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(9):3494-3498. doi:10.1210/jc.2006-0656.
114. Woodmansee WW, Zimmermann AG, Child CJ, et al. Incidence of second neoplasm in childhood cancer survivors treated with GH: an analysis of GeNeSIS and HypoCCS. *Eur J Endocrinol Eur Fed Endocr Soc.* 2013;168(4):565-573. doi:10.1530/EJE-12-0967.
115. Mackenzie S, Craven T, Gattamaneni HR, Swindell R, Shalet SM, Brabant G. Long-term safety of growth hormone replacement after CNS irradiation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(9):2756-2761. doi:10.1210/jc.2011-0112.
116. Long-Term Effects of Bone Marrow Transplantation: Overview, Immunosuppression and Graft Versus Host Disease After Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Secondary Malignancies After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. February 2016. <http://emedicine.medscape.com/article/989518-overview>. Accessed February 28, 2016.
117. Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;65(6):1231-1237. doi:10.1210/jcem-65-6-1231.
118. Treloar AE. Menstrual cyclicity and the pre-menopause. *Maturitas.* 1981;3(3-4):249-264.
119. Johnston RJ, Wallace WHB. Normal ovarian function and assessment of ovarian reserve in the survivor of childhood cancer. *Pediatr Blood Cancer.* 2009;53(2):296-302. doi:10.1002/pbc.22012.
120. Wallace WHB, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;62(3):738-744. doi:10.1016/j.ijrobp.2004.11.038.
121. Liu J, Malhotra R, Voltarelli J, et al. Ovarian recovery after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(3):275-278. doi:10.1038/sj.bmt.1705893.
122. Lie Fong S, Laven JSE, Hakvoort-Cammel FG a. J, et al. Assessment of ovarian reserve in adult childhood cancer survivors using anti-Müllerian hormone. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2009;24(4):982-990. doi:10.1093/humrep/den487.
123. Petryk A, Bergemann TL, Polga KM, et al. Prospective study of changes in bone mineral density and turnover in children after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):899-905. doi:10.1210/jc.2005-1927.

124. Gallagher JC. Effect of early menopause on bone mineral density and fractures. *Menopause N Y N*. 2007;14(3 Pt 2):567-571. doi:10.1097/gme.0b013e31804c793d.
125. Jacobsen BK, Knutsen SF, Fraser GE. Age at natural menopause and total mortality and mortality from ischemic heart disease: the Adventist Health Study. *J Clin Epidemiol*. 1999;52(4):303-307.
126. de Kleijn MJJ, van der Schouw YT, Verbeek ALM, Peeters PHM, Banga J-D, van der Graaf Y. Endogenous estrogen exposure and cardiovascular mortality risk in postmenopausal women. *Am J Epidemiol*. 2002;155(4):339-345.
127. Mondul AM, Rodriguez C, Jacobs EJ, Calle EE. Age at natural menopause and cause-specific mortality. *Am J Epidemiol*. 2005;162(11):1089-1097. doi:10.1093/aje/kwi324.
128. Yao S, McCarthy PL, Dunford LM, et al. High prevalence of early-onset osteopenia/osteoporosis after allogeneic stem cell transplantation and improvement after bisphosphonate therapy. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(4):393-398. doi:10.1038/sj.bmt.1705918.
129. Salooja N, Szydlo RM, Socie G, et al. Pregnancy outcomes after peripheral blood or bone marrow transplantation: a retrospective survey. *Lancet Lond Engl*. 2001;358(9278):271-276.
130. Winther JF, Boice JD, Frederiksen K, et al. Radiotherapy for childhood cancer and risk for congenital malformations in offspring: a population-based cohort study. *Clin Genet*. 2009;75(1):50-56. doi:10.1111/j.1399-0004.2008.01109.x.
131. Nagarajan R, Robison LL. Pregnancy outcomes in survivors of childhood cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2005;(34):72-76. doi:10.1093/jncimonographs/lgi020.
132. Bakker B, Massa GG, Oostdijk W, Van Weel-Sipman MH, Vossen JM, Wit JM. Pubertal development and growth after total-body irradiation and bone marrow transplantation for haematological malignancies. *Eur J Pediatr*. 2000;159(1-2):31-37.
133. Somali M, Mpatakioas V, Avramides A, et al. Function of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in long-term survivors of hematopoietic stem cell transplantation for hematological diseases. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2005;21(1):18-26. doi:10.1080/09513590500099255.
134. Anserini P, Chiodi S, Spinelli S, et al. Semen analysis following allogeneic bone marrow transplantation. Additional data for evidence-based counselling. *Bone Marrow Transplant*. 2002;30(7):447-451. doi:10.1038/sj.bmt.1703651.
135. Sanders JE, Hawley J, Levy W, et al. Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood*. 1996;87(7):3045-3052.
136. Sanders JE, Hoffmeister PA, Woolfrey AE, et al. Thyroid function following hematopoietic cell transplantation in children: 30 years' experience. *Blood*. 2009;113(2):306-308. doi:10.1182/blood-2008-08-173005.
137. Cohen A, Rovelli A, Merlo DF, et al. Risk for secondary thyroid carcinoma after hematopoietic stem-cell transplantation: an EBMT Late Effects Working Party Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2007;25(17):2449-2454. doi:10.1200/JCO.2006.08.9276.
138. Hoffmeister PA, Madtes DK, Storer BE, Sanders JE. Pulmonary function in long-term survivors of pediatric hematopoietic cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 2006;47(5):594-606. doi:10.1002/pbc.20531.

139. Cerveri I, Zoia MC, Fulgoni P, et al. Late pulmonary sequelae after childhood bone marrow transplantation. *Thorax*. 1999;54(2):131-135.
140. Uderzo C, Pillon M, Corti P, et al. Impact of cumulative anthracycline dose, preparative regimen and chronic graft-versus-host disease on pulmonary and cardiac function in children 5 years after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective evaluation on behalf of the EBMT Pediatric Diseases and Late Effects Working Parties. *Bone Marrow Transplant*. 2007;39(11):667-675. doi:10.1038/sj.bmt.1705652.
141. Faraci M, Barra S, Cohen A, et al. Very late nonfatal consequences of fractionated TBI in children undergoing bone marrow transplant. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005;63(5):1568-1575. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.04.031.
142. Rieger CT, Rieger H, Kolb HJ, et al. Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: incidence in matched-related and matched-unrelated transplant settings. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. 2009;11(3):220-226. doi:10.1111/j.1399-3062.2009.00379.x.
143. Afessa B, Litzow MR, Tefferi A. Bronchiolitis obliterans and other late onset non-infectious pulmonary complications in hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2001;28(5):425-434. doi:10.1038/sj.bmt.1703142.
144. Palmas A, Tefferi A, Myers JL, et al. Late-onset noninfectious pulmonary complications after allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. 1998;100(4):680-687.
145. Nishio N, Yagasaki H, Takahashi Y, et al. Late-onset non-infectious pulmonary complications following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44(5):303-308. doi:10.1038/bmt.2009.33.
146. Patriarca F, Skert C, Bonifazi F, et al. Effect on survival of the development of late-onset non-infectious pulmonary complications after stem cell transplantation. *Haematologica*. 2006;91(9):1268-1272.
147. Faraci M, Békássy AN, De Fazio V, Tichelli A, Dini G, EBMT Paediatric and Late Effects Working Parties. Non-endocrine late complications in children after allogeneic haematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41 Suppl 2:S49-57. doi:10.1038/bmt.2008.55.
148. Cooke KR, Krenger W, Hill G, et al. Host reactive donor T cells are associated with lung injury after experimental allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 1998;92(7):2571-2580.
149. Majeski EI, Paintlia MK, Lopez AD, Harley RA, London SD, London L. Respiratory reovirus 1/L induction of intraluminal fibrosis, a model of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, is dependent on T lymphocytes. *Am J Pathol*. 2003;163(4):1467-1479. doi:10.1016/S0002-9440(10)63504-3.
150. Socié G, Salooja N, Cohen A, et al. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2003;101(9):3373-3385. doi:10.1182/blood-2002-07-2231.
151. Fullmer JJ, Fan LL, Dishop MK, Rodgers C, Krance R. Successful treatment of bronchiolitis obliterans in a bone marrow transplant patient with tumor necrosis factor-alpha blockade. *Pediatrics*. 2005;116(3):767-770. doi:10.1542/peds.2005-0806.
152. Armenian SH, Sun C-L, Francisco L, et al. Late congestive heart failure after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008;26(34):5537-5543. doi:10.1200/JCO.2008.17.7428.

153. Sakata-Yanagimoto M, Kanda Y, Nakagawa M, et al. Predictors for severe cardiac complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33(10):1043-1047. doi:10.1038/sj.bmt.1704487.
154. Fujimaki K, Maruta A, Yoshida M, et al. Severe cardiac toxicity in hematological stem cell transplantation: predictive value of reduced left ventricular ejection fraction. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27(3):307-310. doi:10.1038/sj.bmt.1702783.
155. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Sallan SE, et al. Chronic progressive cardiac dysfunction years after doxorubicin therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2005;23(12):2629-2636. doi:10.1200/JCO.2005.12.121.
156. Adams MJ, Hardenbergh PH, Constine LS, Lipshultz SE. Radiation-associated cardiovascular disease. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2003;45(1):55-75.
157. Uderzo C, Pillon M, Corti P, et al. Impact of cumulative anthracycline dose, preparative regimen and chronic graft-versus-host disease on pulmonary and cardiac function in children 5 years after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective evaluation on behalf of the EBMT Pediatric Diseases and Late Effects Working Parties. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39(11):667-675. doi:10.1038/sj.bmt.1705652.
158. Ferry C, Gemayel G, Rocha V, et al. Long-term outcomes after allogeneic stem cell transplantation for children with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40(3):219-224. doi:10.1038/sj.bmt.1705710.
159. Larsen RL, Barber G, Heise CT, August CS. Exercise assessment of cardiac function in children and young adults before and after bone marrow transplantation. *Pediatrics.* 1992;89(4 Pt 2):722-729.
160. Kist-van Holthe JE, Bresters D, Ahmed-Ousenkova YM, et al. Long-term renal function after hemopoietic stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant.* 2005;36(7):605-610. doi:10.1038/sj.bmt.1705110.
161. Sakellari I, Barbouti A, Bamichas G, et al. GVHD-associated chronic kidney disease after allogeneic haematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(10):1329-1334. doi:10.1038/bmt.2013.55.
162. Frisk P, Bratteby LE, Carlson K, Lönnerholm G. Renal function after autologous bone marrow transplantation in children: a long-term prospective study. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29(2):129-136. doi:10.1038/sj.bmt.1703312.
163. Van Why SK, Friedman AL, Wei LJ, Hong R. Renal insufficiency after bone marrow transplantation in children. *Bone Marrow Transplant.* 1991;7(5):383-388.
164. Locasciulli A, Testa M, Valsecchi MG, et al. The role of hepatitis C and B virus infections as risk factors for severe liver complications following allogeneic BMT: a prospective study by the Infectious Disease Working Party of the European Blood and Marrow Transplantation Group. *Transplantation.* 1999;68(10):1486-1491.
165. Lee JW, Kang HJ, Kim EK, Kim H, Shin HY, Ahn HS. Effect of iron overload and iron-chelating therapy on allogeneic hematopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant.* 2009;44(12):793-797. doi:10.1038/bmt.2009.88.
166. Majhail NS, DeFor T, Lazarus HM, Burns LJ. High prevalence of iron overload in adult allogeneic hematopoietic cell transplant survivors. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* 2008;14(7):790-794. doi:10.1016/j.bbmt.2008.04.009.

167. Ng JS, Lam DS, Li CK, et al. Ocular complications of pediatric bone marrow transplantation. *Ophthalmology*. 1999;106(1):160-164. doi:10.1016/S0161-6420(99)90023-4.
168. Aristei C, Alessandro M, Santucci A, et al. Cataracts in patients receiving stem cell transplantation after conditioning with total body irradiation. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29(6):503-507. doi:10.1038/sj.bmt.1703400.
169. Nassiri N, Eslani M, Panahi N, Mehravaran S, Ziaei A, Djalilian AR. Ocular Graft Versus Host Disease Following Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Review of Current Knowledge and Recommendations. *J Ophthalmic Vis Res*. 2013;8(4):351-358.
170. Petropoulou AD, Porcher R, Herr A-L, et al. Prospective assessment of bone turnover and clinical bone diseases after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation*. 2010;89(11):1354-1361. doi:10.1097/TP.0b013e3181d84c8e.
171. Campbell S, Sun C-L, Kurian S, et al. Predictors of avascular necrosis of bone in long-term survivors of hematopoietic cell transplantation. *Cancer*. 2009;115(18):4127-4135. doi:10.1002/cncr.24474.
172. Gurney JG, Ness KK, Rosenthal J, Forman SJ, Bhatia S, Baker KS. Visual, auditory, sensory, and motor impairments in long-term survivors of hematopoietic stem cell transplantation performed in childhood: results from the Bone Marrow Transplant Survivor study. *Cancer*. 2006;106(6):1402-1408. doi:10.1002/cncr.21752.
173. Dahllöf G, Barr M, Bolme P, et al. Disturbances in dental development after total body irradiation in bone marrow transplant recipients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1988;65(1):41-44.
174. Uderzo C, Fraschini D, Balduzzi A, et al. Long-term effects of bone marrow transplantation on dental status in children with leukaemia. *Bone Marrow Transplant*. 1997;20(10):865-869. doi:10.1038/sj.bmt.1700993.
175. Vaughan MD, Rowland CC, Tong X, et al. Dental abnormalities after pediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36(8):725-729. doi:10.1038/sj.bmt.1705136.
176. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(4):820-823.
177. Friend SH, Bernards R, Rogelj S, et al. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature*. 1986;323(6089):643-646. doi:10.1038/323643a0.
178. Rahman N, Arbour L, Tonin P, et al. Evidence for a familial Wilms' tumour gene (FWT1) on chromosome 17q12-q21. *Nat Genet*. 1996;13(4):461-463. doi:10.1038/ng0896-461.
179. Maris JM. Defining Why Cancer Develops in Children. *N Engl J Med*. 2015;373(24):2373-2375. doi:10.1056/NEJMe1513921.
180. Zhang J, Walsh MF, Wu G, et al. Germline Mutations in Predisposition Genes in Pediatric Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(24):2336-2346. doi:10.1056/NEJMoa1508054.
181. Mody RJ, Wu Y-M, Lonigro RJ, et al. Integrative Clinical Sequencing in the Management of Refractory or Relapsed Cancer in Youth. *JAMA*. 2015;314(9):913-925. doi:10.1001/jama.2015.10080.
182. Magnusson S, Borg A, Kristoffersson U, Nilbert M, Wiebe T, Olsson H. Higher occurrence of childhood cancer in families with germline mutations in BRCA2, MMR and CDKN2A genes. *Fam Cancer*. 2008;7(4):331-337. doi:10.1007/s10689-008-9195-7.

183. Brooks GA, Stopfer JE, Erlichman J, Davidson R, Nathanson KL, Domchek SM. Childhood cancer in families with and without BRCA1 or BRCA2 mutations ascertained at a high-risk breast cancer clinic. *Cancer Biol Ther.* 2006;5(9):1098-1102.
184. Seif AE. Pediatric leukemia predisposition syndromes: clues to understanding leukemogenesis. *Cancer Genet.* 2011;204(5):227-244. doi:10.1016/j.cancergen.2011.04.005.
185. Urayama KY, Chokkalingam AP, Manabe A, Mizutani S. Current evidence for an inherited genetic basis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol.* 2013;97(1):3-19. doi:10.1007/s12185-012-1220-9.
186. Chokkalingam AP, Buffler PA. Genetic susceptibility to childhood leukaemia. *Radiat Prot Dosimetry.* 2008;132(2):119-129. doi:10.1093/rpd/ncn255.
187. Ellinghaus E, Stanulla M, Richter G, et al. Identification of germline susceptibility loci in ETV6-RUNX1-rearranged childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2012;26(5):902-909. doi:10.1038/leu.2011.302.
188. Orsi L, Rudant J, Bonaventure A, et al. Genetic polymorphisms and childhood acute lymphoblastic leukemia: GWAS of the ESCALE study (SFCE). *Leukemia.* 2012;26(12):2561-2564. doi:10.1038/leu.2012.148.
189. Treviño LR, Yang W, French D, et al. Germline genomic variants associated with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet.* 2009;41(9):1001-1005. doi:10.1038/ng.432.
190. Xu H, Yang W, Perez-Andreu V, et al. Novel susceptibility variants at 10p12.31-12.2 for childhood acute lymphoblastic leukemia in ethnically diverse populations. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(10):733-742. doi:10.1093/jnci/djt042.
191. Fletcher O, Houlston RS. Architecture of inherited susceptibility to common cancer. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(5):353-361. doi:10.1038/nrc2840.
192. Enciso-Mora V, Hosking FJ, Sheridan E, et al. Common genetic variation contributes significantly to the risk of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2012;26(10):2212-2215. doi:10.1038/leu.2012.89.
193. Alter BP. Cancer in Fanconi anemia, 1927-2001. *Cancer.* 2003;97(2):425-440. doi:10.1002/cncr.11046.
194. Soulier J. Fanconi anemia. *Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 2011;2011:492-497. doi:10.1182/asheducation-2011.1.492.
195. Malkin D, Nichols KE, Zelle K, Schiffman JD. Predisposition to pediatric and hematologic cancers: a moving target. *Am Soc Clin Oncol Educ Book ASCO Am Soc Clin Oncol Meet.* 2014:e44-55. doi:10.14694/EdBook\_AM.2014.34.e44.
196. Side LE, Emanuel PD, Taylor B, et al. Mutations of the NF1 gene in children with juvenile myelomonocytic leukemia without clinical evidence of neurofibromatosis, type 1. *Blood.* 1998;92(1):267-272.
197. Vlachos A, Rosenberg PS, Atsidaftos E, Alter BP, Lipton JM. Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Blood.* 2012;119(16):3815-3819. doi:10.1182/blood-2011-08-375972.
198. Dror Y, Freedman MH. Shwachman-diamond syndrome. *Br J Haematol.* 2002;118(3):701-713.

199. Ballmaier M, Germeshausen M. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Semin Thromb Hemost.* 2011;37(6):673-681. doi:10.1055/s-0031-1291377.
200. Freedman MH, Bonilla MA, Fier C, et al. Myelodysplasia syndrome and acute myeloid leukemia in patients with congenital neutropenia receiving G-CSF therapy. *Blood.* 2000;96(2):429-436.
201. Shah S, Schrader KA, Waanders E, et al. A recurrent germline PAX5 mutation confers susceptibility to pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet.* 2013;45(10):1226-1231. doi:10.1038/ng.2754.
202. Hyde RK, Liu PP. Germline PAX5 mutations and B cell leukemia. *Nat Genet.* 2013;45(10):1104-1105. doi:10.1038/ng.2778.
203. Perez-Garcia A, Ambesi-Impiombato A, Hadler M, et al. Genetic loss of SH2B3 in acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2013;122(14):2425-2432. doi:10.1182/blood-2013-05-500850.
204. Xavier AC, Ge Y, Taub JW. Down syndrome and malignancies: a unique clinical relationship: a paper from the 2008 william beaumont hospital symposium on molecular pathology. *J Mol Diagn JMD.* 2009;11(5):371-380. doi:10.2353/jmoldx.2009.080132.
205. Taub JW. Relationship of chromosome 21 and acute leukemia in children with Down syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2001;23(3):175-178.
206. Reulen RC, Frobisher C, Winter DL, et al. Long-term risks of subsequent primary neoplasms among survivors of childhood cancer. *JAMA.* 2011;305(22):2311-2319. doi:10.1001/jama.2011.747.
207. Neglia JP, Friedman DL, Yasui Y, et al. Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(8):618-629.
208. Jenkinson HC, Hawkins MM, Stiller CA, Winter DL, Marsden HB, Stevens MCG. Long-term population-based risks of second malignant neoplasms after childhood cancer in Britain. *Br J Cancer.* 2004;91(11):1905-1910. doi:10.1038/sj.bjc.6602226.
209. Friedman DL, Whitton J, Leisenring W, et al. Subsequent neoplasms in 5-year survivors of childhood cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(14):1083-1095. doi:10.1093/jnci/djq238.
210. Hisada M, Garber JE, Fung CY, Fraumeni JF, Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(8):606-611.
211. Lustbader ED, Williams WR, Bondy ML, Strom S, Strong LC. Segregation analysis of cancer in families of childhood soft-tissue-sarcoma patients. *Am J Hum Genet.* 1992;51(2):344-356.
212. Wong FL, Boice JD, Abramson DH, et al. Cancer incidence after retinoblastoma. Radiation dose and sarcoma risk. *JAMA.* 1997;278(15):1262-1267.
213. Garber JE, Offit K. Hereditary cancer predisposition syndromes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2005;23(2):276-292. doi:10.1200/JCO.2005.10.042.
214. Best T, Li D, Skol AD, et al. Variants at 6q21 implicate PRDM1 in the etiology of therapy-induced second malignancies after Hodgkin's lymphoma. *Nat Med.* 2011;17(8):941-943. doi:10.1038/nm.2407.
215. Ron E, Preston DL, Mabuchi K, Thompson DE, Soda M. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part IV: Comparison of cancer incidence and mortality. *Radiat Res.* 1994;137(2 Suppl):S98-112.

216. Thompson DE, Mabuchi K, Ron E, et al. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part II: Solid tumors, 1958-1987. *Radiat Res.* 1994;137(2 Suppl):S17-67.
217. Sadamori N, Shibata S, Mine M, et al. Incidence of intracranial meningiomas in Nagasaki atomic-bomb survivors. *Int J Cancer.* 1996;67(3):318-322. doi:10.1002/(SICI)1097-0215(19960729)67:3<318::AID-IJC2>3.0.CO;2-U.
218. Cahan WG, Woodard HQ. Sarcoma arising in irradiated bone; report of 11 cases. *Cancer.* 1948;1(1):3-29.
219. Smith PG, Doll R. Mortality among patients with ankylosing spondylitis after a single treatment course with x rays. *Br Med J Clin Res Ed.* 1982;284(6314):449-460.
220. Ron E, Modan B, Boice JD. Mortality after radiotherapy for ringworm of the scalp. *Am J Epidemiol.* 1988;127(4):713-725.
221. Ron E, Modan B, Boice JD, et al. Tumors of the brain and nervous system after radiotherapy in childhood. *N Engl J Med.* 1988;319(16):1033-1039. doi:10.1056/NEJM198810203191601.
222. Braunstein S, Nakamura JL. Radiotherapy-Induced Malignancies: Review of Clinical Features, Pathobiology, and Evolving Approaches for Mitigating Risk. *Front Oncol.* 2013;3. doi:10.3389/fonc.2013.00073.
223. Curtis RE, Rowlings PA, Deeg HJ, et al. Solid cancers after bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1997;336(13):897-904. doi:10.1056/NEJM199703273361301.
224. Socié G, Henry-Amar M, Devergie A, et al. Poor clinical outcome of patients developing malignant solid tumors after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Leuk Lymphoma.* 1992;7(5-6):419-423. doi:10.3109/10428199209049797.
225. Witherspoon RP, Storb R, Pepe M, Longton G, Sullivan KM. Cumulative incidence of secondary solid malignant tumors in aplastic anemia patients given marrow grafts after conditioning with chemotherapy alone. *Blood.* 1992;79(1):289-291.
226. Gluckman E, Horowitz MM, Champlin RE, et al. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: influence of conditioning and graft-versus-host disease prophylaxis regimens on outcome. *Blood.* 1992;79(1):269-275.
227. Bhatia S, Louie AD, Bhatia R, et al. Solid cancers after bone marrow transplantation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2001;19(2):464-471.
228. Kolb HJ, Socié G, Duell T, et al. Malignant neoplasms in long-term survivors of bone marrow transplantation. Late Effects Working Party of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Late Effect Project Group. *Ann Intern Med.* 1999;131(10):738-744.
229. Baker KS, DeFor TE, Burns LJ, Ramsay NKC, Neglia JP, Robison LL. New Malignancies After Blood or Marrow Stem-Cell Transplantation in Children and Adults: Incidence and Risk Factors. *J Clin Oncol.* 2003;21(7):1352-1358. doi:10.1200/JCO.2003.05.108.
230. Bhatia S, Ramsay NK, Steinbuch M, et al. Malignant neoplasms following bone marrow transplantation. *Blood.* 1996;87(9):3633-3639.
231. Socié G, Curtis RE, Deeg HJ, et al. New malignant diseases after allogeneic marrow transplantation for childhood acute leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2000;18(2):348-357.

232. Deeg HJ, Socié G, Schoch G, et al. Malignancies after marrow transplantation for aplastic anemia and fanconi anemia: a joint Seattle and Paris analysis of results in 700 patients. *Blood*. 1996;87(1):386-392.
233. Lishner M, Patterson B, Kandel R, et al. Cutaneous and mucosal neoplasms in bone marrow transplant recipients. *Cancer*. 1990;65(3):473-476. doi:10.1002/1097-0142(19900201)65:3<473::AID-CNCR2820650316>3.0.CO;2-V.
234. Curtis RE, Metayer C, Rizzo JD, et al. Impact of chronic GVHD therapy on the development of squamous-cell cancers after hematopoietic stem-cell transplantation: an international case-control study. *Blood*. 2005;105(10):3802-3811. doi:10.1182/blood-2004-09-3411.
235. Socie G, Henry-Amar M, Bacigalupo A, et al. Malignant Tumors Occurring after Treatment of Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 1993;329(16):1152-1157. doi:10.1056/NEJM199310143291603.
236. Rizzo JD, Curtis RE, Socié G, et al. Solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2009;113(5):1175-1183. doi:10.1182/blood-2008-05-158782.
237. Majhail NS, Brazauskas R, Rizzo JD, et al. Secondary solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation using busulfan-cyclophosphamide conditioning. *Blood*. 2011;117(1):316-322. doi:10.1182/blood-2010-07-294629.
238. Cohen A, Rovelli A, Merlo DF, et al. Risk for secondary thyroid carcinoma after hematopoietic stem-cell transplantation: an EBMT Late Effects Working Party Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2007;25(17):2449-2454. doi:10.1200/JCO.2006.08.9276.
239. Friedman DL, Roivo A, Leisenring W, et al. Increased risk of breast cancer among survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation: a report from the FHCRC and the EBMT-Late Effect Working Party. *Blood*. 2008;111(2):939-944. doi:10.1182/blood-2007-07-099283.
240. Travis LB, Gospodarowicz M, Curtis RE, et al. Lung cancer following chemotherapy and radiotherapy for Hodgkin's disease. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(3):182-192.
241. Yokota A, Ozawa S, Masanori T, et al. Secondary solid tumors after allogeneic hematopoietic SCT in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(1):95-100. doi:10.1038/bmt.2011.23.
242. Omori M, Yamashita H, Shinohara A, et al. Eleven secondary cancers after hematopoietic stem cell transplantation using a total body irradiation-based regimen in 370 consecutive pediatric and adult patients. *SpringerPlus*. 2013;2. doi:10.1186/2193-1801-2-424.
243. Danner-Koptik KE, Majhail NS, Brazauskas R, et al. Second malignancies after autologous hematopoietic cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(3):363-368. doi:10.1038/bmt.2012.166.
244. Cavalier M, Shmalo JA, Yu M, Billings SD, Abonour R, Nelson RP. Skin cancer after nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2006;37(12):1103-1108. doi:10.1038/sj.bmt.1705362.
245. Majhail NS. Old and new cancers after hematopoietic-cell transplantation. *Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2008:142-149. doi:10.1182/asheducation-2008.1.142.
246. van Leeuwen FE, Klokmann WJ, Stovall M, et al. Roles of radiation dose, chemotherapy, and hormonal factors in breast cancer following Hodgkin's disease. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95(13):971-980.

247. Travis LB, Hill D, Dores GM, et al. Cumulative absolute breast cancer risk for young women treated for Hodgkin lymphoma. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(19):1428-1437. doi:10.1093/jnci/dji290.
248. Inskip PD, Robison LL, Stovall M, et al. Radiation dose and breast cancer risk in the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2009;27(24):3901-3907. doi:10.1200/JCO.2008.20.7738.
249. Guibout C, Adjadj E, Rubino C, et al. Malignant breast tumors after radiotherapy for a first cancer during childhood. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2005;23(1):197-204. doi:10.1200/JCO.2005.06.225.
250. Kenney LB, Yasui Y, Inskip PD, et al. Breast cancer after childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Ann Intern Med.* 2004;141(8):590-597.
251. Yahalom J, Petrek JA, Biddinger PW, et al. Breast cancer in patients irradiated for Hodgkin's disease: a clinical and pathologic analysis of 45 events in 37 patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1992;10(11):1674-1681.
252. Dores GM, Anderson WF, Beane Freeman LE, Fraumeni JF, Curtis RE. Risk of breast cancer according to clinicopathologic features among long-term survivors of Hodgkin's lymphoma treated with radiotherapy. *Br J Cancer.* 2010;103(7):1081-1084. doi:10.1038/sj.bjc.6605877.
253. Wolden SL, Hancock SL, Carlson RW, Goffinet DR, Jeffrey SS, Hoppe RT. Management of breast cancer after Hodgkin's disease. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2000;18(4):765-772.
254. Landier W, Bhatia S, Eshelman DA, et al. Development of risk-based guidelines for pediatric cancer survivors: the Children's Oncology Group Long-Term Follow-Up Guidelines from the Children's Oncology Group Late Effects Committee and Nursing Discipline. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2004;22(24):4979-4990. doi:10.1200/JCO.2004.11.032.
255. Bhatia S, Yasui Y, Robison LL, et al. High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2003;21(23):4386-4394. doi:10.1200/JCO.2003.11.059.
256. Taylor AJ, Croft AP, Palace AM, et al. Risk of thyroid cancer in survivors of childhood cancer: results from the British Childhood Cancer Survivor Study. *Int J Cancer.* 2009;125(10):2400-2405. doi:10.1002/ijc.24581.
257. Acharya S, Sarafoglou K, LaQuaglia M, et al. Thyroid neoplasms after therapeutic radiation for malignancies during childhood or adolescence. *Cancer.* 2003;97(10):2397-2403. doi:10.1002/cncr.11362.
258. Veiga LHS, Lubin JH, Anderson H, et al. A pooled analysis of thyroid cancer incidence following radiotherapy for childhood cancer. *Radiat Res.* 2012;178(4):365-376.
259. Black P, Straaten A, Gutjahr P. Secondary thyroid carcinoma after treatment for childhood cancer. *Med Pediatr Oncol.* 1998;31(2):91-95.
260. Schneider AB, Ron E, Lubin J, Stovall M, Gierlowski TC. Dose-response relationships for radiation-induced thyroid cancer and thyroid nodules: evidence for the prolonged effects of radiation on the thyroid. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77(2):362-369. doi:10.1210/jcem.77.2.8345040.
261. Sigurdson AJ, Ronckers CM, Mertens AC, et al. Primary thyroid cancer after a first tumour in childhood (the Childhood Cancer Survivor Study): a nested case-control study. *Lancet Lond Engl.* 2005;365(9476):2014-2023. doi:10.1016/S0140-6736(05)66695-0.

262. Ronckers CM, Sigurdson AJ, Stovall M, et al. Thyroid cancer in childhood cancer survivors: a detailed evaluation of radiation dose response and its modifiers. *Radiat Res.* 2006;166(4):618-628. doi:10.1667/RR3605.1.
263. Henderson TO, Whitton J, Stovall M, et al. Secondary sarcomas in childhood cancer survivors: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(4):300-308. doi:10.1093/jnci/djk052.
264. Kleinerman RA, Tucker MA, Abramson DH, Seddon JM, Tarone RE, Fraumeni JF. Risk of soft tissue sarcomas by individual subtype in survivors of hereditary retinoblastoma. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(1):24-31. doi:10.1093/jnci/djk002.
265. Guérin S, Dupuy A, Anderson H, et al. Radiation dose as a risk factor for malignant melanoma following childhood cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2003;39(16):2379-2386.
266. Hijjiya N, Hudson MM, Lensing S, et al. Cumulative incidence of secondary neoplasms as a first event after childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA.* 2007;297(11):1207-1215. doi:10.1001/jama.297.11.1207.
267. Perkins JL, Liu Y, Mitby PA, et al. Nonmelanoma skin cancer in survivors of childhood and adolescent cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2005;23(16):3733-3741. doi:10.1200/JCO.2005.06.237.
268. Watt TC, Inskip PD, Stratton K, et al. Radiation-related risk of basal cell carcinoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(16):1240-1250. doi:10.1093/jnci/djs298.
269. Neglia JP, Robison LL, Stovall M, et al. New primary neoplasms of the central nervous system in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(21):1528-1537. doi:10.1093/jnci/djj411.
270. Armstrong GT, Liu Q, Yasui Y, et al. Long-term outcomes among adult survivors of childhood central nervous system malignancies in the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(13):946-958. doi:10.1093/jnci/djp148.
271. L oning L, Zimmermann M, Reiter A, et al. Secondary neoplasms subsequent to Berlin-Frankfurt-Münster therapy of acute lymphoblastic leukemia in childhood: significantly lower risk without cranial radiotherapy. *Blood.* 2000;95(9):2770-2775.
272. Taylor AJ, Little MP, Winter DL, et al. Population-based risks of CNS tumors in survivors of childhood cancer: the British Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2010;28(36):5287-5293. doi:10.1200/JCO.2009.27.0090.
273. Bowers DC, Nathan PC, Constine L, et al. Subsequent neoplasms of the CNS among survivors of childhood cancer: a systematic review. *Lancet Oncol.* 2013;14(8):e321-328. doi:10.1016/S1470-2045(13)70107-4.
274. Relling MV, Rubnitz JE, Rivera GK, et al. High incidence of secondary brain tumours after radiotherapy and antimetabolites. *Lancet Lond Engl.* 1999;354(9172):34-39. doi:10.1016/S0140-6736(98)11079-6.
275. Haddy N, Le Deley MC, Samand A, et al. Role of radiotherapy and chemotherapy in the risk of secondary leukaemia after a solid tumour in childhood. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2006;42(16):2757-2764. doi:10.1016/j.ejca.2006.05.034.

276. Winick NJ, McKenna RW, Shuster JJ, et al. Secondary acute myeloid leukemia in children with acute lymphoblastic leukemia treated with etoposide. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1993;11(2):209-217.
277. Hawkins MM, Wilson LM, Stovall MA, et al. Epipodophyllotoxins, alkylating agents, and radiation and risk of secondary leukaemia after childhood cancer. *BMJ*. 1992;304(6832):951-958.
278. Hijjiya N, Ness KK, Ribeiro RC, Hudson MM. Acute leukemia as a secondary malignancy in children and adolescents: current findings and issues. *Cancer*. 2009;115(1):23-35. doi:10.1002/cncr.23988.
279. Rihani R, Bazzeh F, Faqih N, Sultan I. Secondary hematopoietic malignancies in survivors of childhood cancer: an analysis of 111 cases from the Surveillance, Epidemiology, and End Result-9 registry. *Cancer*. 2010;116(18):4385-4394. doi:10.1002/cncr.25313.
280. Pedersen-Bjergaard J, Andersen MK, Christiansen DH. Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplasia after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Blood*. 2000;95(11):3273-3279.
281. Flynn CM, Kaufman DS. Donor cell leukemia: insight into cancer stem cells and the stem cell niche. *Blood*. 2007;109(7):2688-2692. doi:10.1182/blood-2006-07-021980.
282. Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA, et al. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood*. 1999;94(7):2208-2216.
283. Lowe T, Bhatia S, Somlo G. Second malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2007;13(10):1121-1134. doi:10.1016/j.bbmt.2007.07.002.
284. O'Reilly RJ, Doubrovina E, Trivedi D, Hasan A, Kollen W, Koehne G. Adoptive transfer of antigen-specific T-cells of donor type for immunotherapy of viral infections following allogeneic hematopoietic cell transplants. *Immunol Res*. 2007;38(1-3):237-250.
285. Timares L, Katiyar S, Elmets CA. DNA Damage, Apoptosis and Langerhans cells – Activators of UV-induced Immune Tolerance. *Photochem Photobiol*. 2008;84(2):422-436. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00284.x.
286. Ron E, Preston DL, Kishikawa M, et al. Skin tumor risk among atomic-bomb survivors in Japan. *Cancer Causes Control CCC*. 1998;9(4):393-401.
287. Scotto J, Kopf AW, Urbach F. Non-melanoma skin cancer among caucasians in four areas of the United States. *Cancer*. 1974;34(4):1333-1338. doi:10.1002/1097-0142(197410)34:4<1333::AID-CNCR2820340447>3.0.CO;2-A.
288. Gross TG, Steinbuch M, DeFor T, et al. B cell lymphoproliferative disorders following hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, treatment and outcome. *Bone Marrow Transplant*. 1999;23(3):251-258. doi:10.1038/sj.bmt.1701554.
289. Katzman H, Waugh T, Berdon W. Skeletal changes following irradiation of childhood tumors. *J Bone Joint Surg Am*. 1969;51(5):825-842.
290. Pogrund H, Yosipovitch Z. Osteochondroma following irradiation. Case report and review of the literature. *Isr J Med Sci*. 1976;12(2):154-157.
291. Libshitz HI, Cohen MA. Radiation-induced osteochondromas. *Radiology*. 1982;142(3):643-647. doi:10.1148/radiology.142.3.6278535.

292. Harper GD, Dicks-Mireaux C, Leiper AD. Total body irradiation-induced osteochondromata. *J Pediatr Orthop*. 1998;18(3):356-358.
293. Taitz J, Cohn RJ, White L, Russell SJ, Vowels MR. Osteochondroma after total body irradiation: an age-related complication. *Pediatr Blood Cancer*. 2004;42(3):225-229. doi:10.1002/pbc.10426.
294. Bordigoni P, Turello R, Clement L, et al. Osteochondroma after pediatric hematopoietic stem cell transplantation: report of eight cases. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29(7):611-614. doi:10.1038/sj.bmt.1703424.
295. King EA, Hanauer DA, Choi SW, et al. Osteochondromas after radiation for pediatric malignancies: a role for expanded counseling for skeletal side effects. *J Pediatr Orthop*. 2014;34(3):331-335. doi:10.1097/BPO.0000000000000081.
296. Kitsoulis P, Galani V, Stefanaki K, et al. Osteochondromas: review of the clinical, radiological and pathological features. *Vivo Athens Greece*. 2008;22(5):633-646.
297. Faraci M, Bagnasco F, Corti P, et al. Osteochondroma after hematopoietic stem cell transplantation in childhood. An Italian study on behalf of the AIEOP-HSCT group. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2009;15(10):1271-1276. doi:10.1016/j.bbmt.2009.06.003.