



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"
DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA**

**ESTIMANDO UNA COSECHA ADECUADA DE CÉLULAS
NUCLEADAS TOTALES EN SANGRE DE CORDON
UMBILICAL**

TESIS DE POSTGRADO

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
PATOLOGIA CLINICA**

PRESENTA:

DRA. MARIA YOLANDA IBARRA PICHARDO

ASESOR

DR. GAMALIEL BENITEZ ARVIZU



MÉXICO, D.F. 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JOSE LUIS MATAMOROS TAPIA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN MÉDICA.

DRA. NOEMI CASTILLO
TITULAR DEL CURSO DE LA ESPECIALIDAD DE
PATOLOGÍA CLÍNICA
JEFE DIVISIÓN DE AUXILIARES DIAGNOSTICOS HOSPITAL DE
CARDIOLOGIA CMN SIGLO XXI

DRA. MA. GUADALUPE CARRILLO MONTES
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO DE LA ESPECIALIDAD DE
PATOLOGÍA CLÍNICA CMN LA RAZA
JEFE DE LABORATORIO CLINICO HGO No. 3

DR. GAMALIEL BENITEZ ARVIZU
ASESOR DE TESIS
MEDICO PATOLOGO CLINICO
ADSCRITO AL BANCO CENTRAL DE SANGRE CMN "LA RAZA"

A MIS PADRES:

**A quienes les debo todo lo que soy
A mama que ha sido la fuerza impulsora de mi vida
A papa que me enseñó el camino**

A MI FAMILIA.

**En agradecimiento al apoyo que siempre me han brindado
A mis tios: Hilario, Guadalupe, Alicia, Ana.
Por estar conmigo siempre, por apoyarme y por comprenderme.**

A MIS GRANDES AMIGOS:

A mi Sergio que siempre ha estado a conmigo...

A Carmen, Caty, Luis y Vero que me acompañaron en el camino...

**A los grandes amigos que me regalo la residencia: Jenny, Jael, Gabriel,
Fernando y Jaime...**

**A mis compañeros de residencia: Ricardo, Rita, Ivette que compartieron
conmigo estos tres maravillosos años...**

A MI ASESOR:

**Al Doctor Gamaliel por su ayuda para la realización de esta tesis y por su
amistad**

**Por apoyarme cuando lo necesite, por llorar y reir conmigo, por ser las
maravillosas personas que son, por ser parte de mi vida...**

A todos ellos ...Muchas Gracias

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
OBJETIVOS.....	10
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	12
DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIONES.....	14
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
ANEXOS.....	17

RESUMEN

INTRODUCCION: Dado que un transplante de CPH se basa en la cantidad de células nucleadas totales por kilogramo de peso resulta lógico considerar que a mayor celularidad de una unidad se podrá cubrir mayor cantidad de kilogramos. En base a esto resulta relevante identificar que variables durante la recolección de SCU nos permitan asegurar por lo menos una cantidad óptima de células nucleadas totales.

MATERIAL Y METODOS: Se revisaron de manera retrospectiva del registro de las unidades recolectadas en el BCS de CMN La Raza de febrero de 2006 hasta febrero del 2008 tomando en cuenta las siguientes variables: Volumen inicial de la unidad de SCU, Numero de gesta, Semanas de gestación, Numero de células nucleadas totales

Se procede a la construcción de una curva ROC para definir los puntos de cohorte mas adecuados para cada una de las variables de interés para obtener como mínimo una concentración de 8×10^8 de CNT.

RESULTADOS: Se analizaron un total de 250 unidades de sangre de cordón umbilical obteniendo los siguientes resultados: Una media de 39 semanas de gestación; una media de 92.75ml de volumen inicial y una media de $6.6344 \times 10^{(8)}$ CNT. Una moda de 39 semanas de gestación; una moda de 1 gesta, una moda de 70 ml de volumen inicial y una moda de $5.54 \times 10^{(8)}$ CNT. La única variable que tenia asociación con la cantidad de CNT es el volumen, obteniendo una $T < 0.01$. Se definió como punto de corte 75 mL de sangre de cordón umbilical.

CONCLUSION: De las variables que se analizaron en el presente estudio solo mostró tener una asociación estadísticamente significativa el volumen de

recolección inicial para obtener una cosecha de sangre de cordón umbilical con un número adecuado de CNT.

INTRODUCCION

En 1974 Knudtson comunicó que la sangre placentaria poseía la capacidad de formar colonias granulocíticas. Posteriormente otros trabajos confirmaron y ampliaron estos hallazgos.

A partir de los años ochentas en que se efectúa el primer trasplante con células provenientes de sangre cordón umbilical (SCU)⁽¹⁾ a la fecha estas se han convertido en una fuente importante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) para los pacientes con padecimientos oncohematológicos^(2,3) principalmente pediátricos⁽⁴⁾ y actualmente en pacientes adultos.

Las dos principales ventajas del trasplante con SCU son la mayor rapidez de la búsqueda (debida a la más fácil accesibilidad a las unidades de SCU congeladas en bancos de SCU) y no requerir una compatibilidad del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) tan estricta con el receptor, por la menor incidencia y gravedad de enfermedad injerto contra huésped.

El sistema hematopoyético está compuesto por una población heterogénea de células que comprende desde células maduras con una limitada capacidad proliferativa y una vida media corta hasta células pluripotentes con una extensa capacidad proliferativa, de diferenciación y de auto-renovación, las denominadas células madre hematopoyéticas (CMHs).

Por esto las CMHs son definidas por su potencial de auto-renovación y por su capacidad para producir una progenie diferenciada.⁽¹⁵⁾

La mayoría de las CMHs expresan el antígeno CD34, una proteína integral de membrana de 90-120 kD, que también se expresa en progenitores comprometidos.

Se ha sugerido que esta molécula funciona como regulador de la adhesión celular

a las células del estroma del microentorno hematopoyético. La frecuencia de las células CD34+ en médula ósea se ha estimado entre 1-3% de la células mononucleadas (MNCs), en SCU oscila entre 0.2-1%.⁽¹⁵⁾

El factor principal de la limitación para un uso amplio de SCU para el trasplante es la dosis celular⁽⁵⁾. Se sabe que las células progenitoras se encuentran en la población de células nucleadas y expresan CD34+. El número recomendado de células nucleadas totales (CNT) para el trasplante de SCU es de 2.7×10^7 (7)/kilogramo de peso^(6,7).

Dado que un transplante de CPH se basa en la cantidad de células nucleadas totales por kilogramo de peso resulta lógico considerar que a mayor celularidad de una unidad se podrá cubrir mayor cantidad de kilogramos. En base a esto resulta relevante identificar que variables durante la recolección de SCU nos permitan asegurar por lo menos una cantidad óptima de células nucleadas totales. En el Banco de Células de cordón umbilical del Centro Médico Nacional La Raza se realizó un estudio no publicado en el cual se cuantificó el número de CNT y CD34+ obteniendo los siguientes resultados: la mediana del contenido de CNT fue de 62×10^7 (9.2 a 184), suficiente para un paciente de 24.8 kg y de CD 34 + la mediana fue de 31×10^5 (3.6 a 245), para un paciente de 18.23 kg.

En la literatura existen trabajos previos en los que se ha estudiado: el tipo de recolección (in útero o ex útero) ambas técnicas obtienen resultados similares en cuanto a células nucleadas totales y CD34+^(8,9). Así como la forma del nacimiento (Vaginal o Cesárea) en este caso se ha reportado que el volumen de la recolección

por vía vaginal es menor al obtenido por vía abdominal sin embargo el tipo de nacimiento no afecta la concentración total de células CD34+⁽¹⁰⁾.

También se ha podido documentar la relación de la cuenta de CPH con el número de gesta, peso del recién nacido, edad materna y el volumen de la unidad recolectada

En la edad gestacional se ha observado que la concentración de CD34+ es mayor en productos de menor edad gestacional, lamentablemente el volumen de la recolección es insuficiente para una recolección adecuada⁽¹¹⁾.

El largo del cordón umbilical, el peso de la placenta⁽¹²⁾ y el peso del recién nacido se ha asociado con el volumen de recolección de la unidad de SCU⁽¹³⁾.

El sexo del recién nacido continua siendo motivo de controversia habiendo estudios que demuestran una cuenta mayor de CNT en el sexo femenino⁽¹³⁾ mientras que otros trabajos no encuentran relación significativa⁽¹⁴⁾.

Sin embargo en nuestro país no se encuentran estudios publicados al respecto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las condiciones adecuadas para lograr unidades con adecuado número de células nucleadas totales?

OBJETIVOS:

GENERAL:

Identificar las condiciones necesarias en cuanto a volumen, gesta y peso del recién nacido para obtener una adecuada cosecha de células nucleadas totales.

ESPECÍFICOS:

Identificar el volumen mínimo necesario de la unidad de sangre de cordón umbilical para obtener una adecuada cosecha de células nucleadas totales.

Identificar el número máximo de gestas para obtener una adecuada cosecha de células nucleadas totales.

Identificar cual es el numero máximo de semanas de gestación para obtener una adecuada cosecha de células nucleadas totales.

MATERIAL Y METODOS

Se llevo a cabo un estudio transversal, retrospectivo, observacional

Se revisaron de manera retrospectiva del registro de las unidades recolectadas en el BCS de CMN La Raza de febrero de 2006 hasta febrero del 2008 tomando en cuenta las siguientes variables:

Volumen inicial de la unidad de SCU: la cantidad de volumen de SCU obtenida expresada en mililitros.

Número de gesta: El numero de gesta entre 1 y 4 para la recolección de SCU

Semanas de gestación: Es el número de semanas de gestación tomando como referencia la fecha de última menstruación al momento de la recolección de la unidad de SCU.

Número de células nucleadas totales: numero de células nucleadas contabilizadas de forma automatizada en el equipo CELL-DYN de abbot.

Se procederá a la construcción de una curva ROC para definir los puntos de cohorte mas adecuados para cada una de las variables de interés para obtener como mínimo una concentración de 8×10^8 de CNT.

Se excluyeron todas aquellas unidades de sangre de cordón umbilical en las que no fue posible recabar el registro completo.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 250 unidades de sangre de cordón umbilical recolectadas en el Banco de Sangre de Cordón Umbilical de CMN La Raza de febrero de 2006 a febrero de 2008; obteniendo los siguientes resultados:

Una media de 39 semanas de gestación; una media de 92.75ml de volumen inicial y una media de $6.6344 \times 10^{(8)}$ CNT.

Una moda de 39 semanas de gestación; una moda de 1 gesta, una moda de 70 ml de volumen inicial y una moda de $5.54 \times 10^{(8)}$ CNT.

En el grafico 1 se plasma: A) Concentración de CNT con respecto a las SDG, B) Concentración de CNT con respecto a numero de gesta y C) Concentración de CNT con respecto al Volumen Inicial.

Se realizo un modelo de regresión lineal entre el Volumen Inicial y CNT, grafico 2.

Al observar que la única variable que tenía asociación con la cantidad de CNT es el volumen se procedió a construir una curva ROC, grafico 3.

Se definió como punto de corte 75 mL de sangre de cordón umbilical.

DISCUSIÓN:

Se puede observar que a pesar de reportes internacionales han observado que el número de gestas o el número de semanas de gestación influyen en la cosecha de CNT en nuestra población no fue así, probablemente se deba a que nuestra población es sumamente homogénea y estas variaciones podrían ser atribuidas a diferencias raciales.

Se puede observar que a pesar de no haber diferencias estadísticamente significativas entre el número de gestas y las CNT se observa una tendencia hacia una disminución de las mismas, mientras que en la de SDG el número de CNT se mantiene constante.

Coincidiendo con investigaciones internacionales la principal variable que presentó asociación con el número de CNT fue el volumen, siendo una relación de dosis respuesta es decir a mayor volumen mayor número de CNT, aunque el modelo de regresión lineal la r cuadrada explica el 23% del fenómeno aunque se puede observar en la gráfica una dispersión de puntos muy homogénea, probablemente si aumentamos el número de mediciones esta se modifique y aumente la linealidad.

El punto de corte en base a la asociación entre el volumen y el número de células nucleadas totales tomando como predictor el volumen inicial fue de 75ml para tener una sensibilidad de 89% y una especificidad de 70%; lo que quiere decir que en 10 unidades recolectadas que por lo menos tengan 75ml probablemente nueve sean útiles en base a la sensibilidad y tres no si tomamos en cuenta la especificidad.

CONCLUSIÓN:

De las variables que se analizaron en el presente estudio solo mostró tener una asociación estadísticamente significativa el volumen de recolección inicial para obtener una cosecha de sangre de cordón umbilical con un número adecuado de CNT.

Por lo que en este estudio observamos que un punto de corte adecuado para el volumen es de 75ml de SCU.

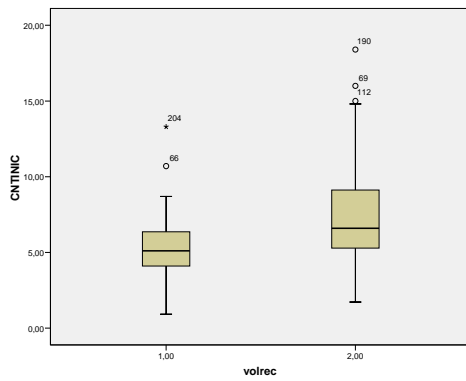
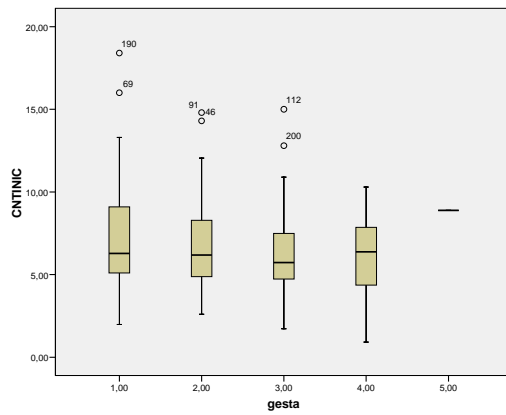
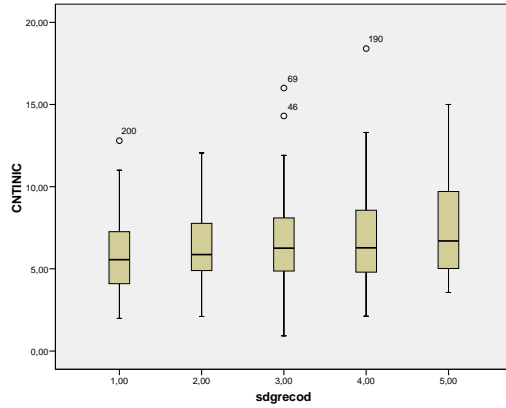
BIBLIOGRAFIA:

1. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW et al. Haematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi anemia by means of umbilical cord blood from an HLA identical sibling. *N Engl J* 1989;321:1174-1178.
2. Cord blood: Establishing a National Haematopoietic Stem Cell Bank Program. Washington, DC: National Academy of Sciences; 2005.
3. Brunstein and Wagner. Umbilical Cord Blood Transplantation and Banking. Supplemental Material. *Annu Rev Med* 2006;57:403-407.
4. Tse W, Laughlin MJ. Umbilical Cord Blood Transplantation: A New Alternative Option. *Hematology* 2005:377-383
5. Schimitz N, Barrett J. optimizing engraftment-source and dose of stem cells. *Semin Hematol* 2002;39:3-14.
6. Lim F, Beckhoven J, Brand A, Kluin-Nelemans J. the number of nucleated cells reflects the hematopoietic content of umbilical cord blood for transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:965-970.
7. Arovita P, Teramo K, Westman P, Hiilesmaa V, Kekomaki R. Association among nucleated cell, CD34+ cell and colony-forming cell contents in cord blood units obtained through a standardized banking process. *Vox Sang* 2003;84:219-227.
8. Solves PS, Moraga R, Mirabet V, Lanea L, Soler MA. *In utero* or *Ex utero* cord blood collection: an unresolved question. *Transfusion* 2003;43:1174-1175.

9. Lasky CL, Haley NR, Kuhn BC. Letter to editor. *Transfusion* 2003;43:1176.
10. Sparrow LR, Cauch JA, Ramadi LT, Wuagh CM, Kirkland MA. Influence of mode of birth and collection on WBC yields of umbilical cord blood units. *Transfusion* 2002;42:210-215.
11. Solves P, Perales A, Moraga R, Saucedo E, Soler A, Monleon J. Maternal, Neonatal and Collection Factors Influencing the Haematopoietic Content of Cord Blood Units. *Acta Haematol* 2005;113:241-246.
12. Solves P, Perales A, Mirabet V, Blasco I, Blanquer , PlaNELLES d, Larrea L, Monleon J, Carbonell-Uberos F, Soler MA. Optimizing donor selection in a cord blood bank. *Eur J Haematol* 2004;72:107-112.
13. Nakagawa R, Watanabe T, Kawano Y, Kanai S, Suzuya H, Kaneko M, Watanebe H, Okamoto Y, Kuroda Y, Nakayama T. Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. *Transfusion* 2004;44:262-267.
14. George T, Surgue M, George S, Wingard J. Factors associated with parameters of engraftment potential of umbilical cord blood. *Transfusion* 2006;46:1803-1812.
15. Migliaccio A, Adamson J, Stevens C, Dobrila L, Rubinstein P. Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical Cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity. *Blood* 2000;96:2717-2722.

GRAFICOS

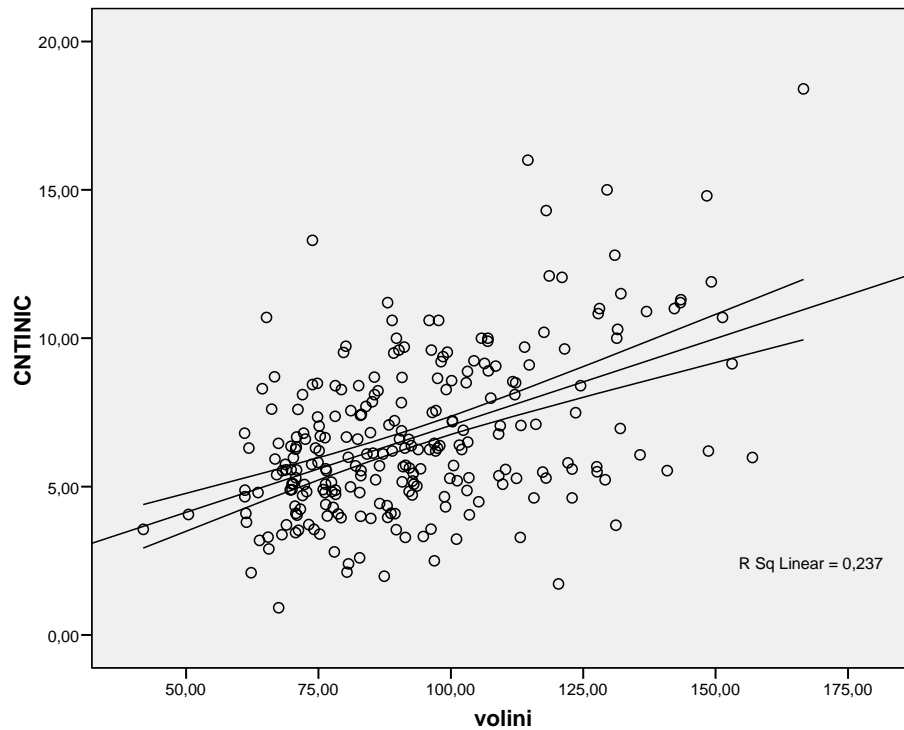
GRAFICO 1



Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para relacionar el numero de gesta con el numero de células nucleadas totales, siendo de 0.52; así como para relacionar el numero de gesta con el numero de células nucleadas totales, obteniéndose 0.45.

Para relacionar el volumen con el número de células nucleadas totales se realizó una prueba de T siendo < 0.01 .

GRAFICO 2

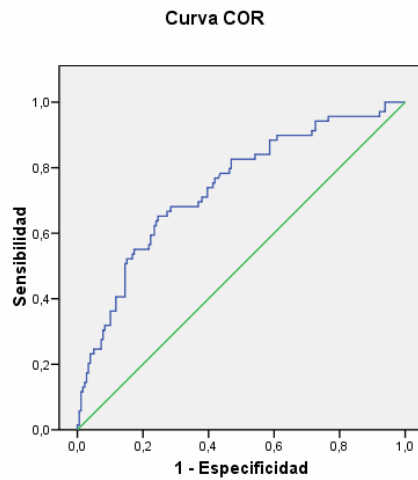


Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Estadísticos de cambio				
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F	gl1	gl2	Sig. del cambio en F
1	,487 ^a	,237	,234	2,35017	,237	76,358	1	246	,000

a. Variables predictoras: (Constante), volini

GRAFICO 3



Positivo si es mayor o igual que(a)	Sensibilidad	1 - Especificidad
74,8150	,899	,715
74,8750	,899	,709
75,0250	,899	,704
75,1850	,899	,693
75,2950	,899	,687
75,6150	,899	,682