



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

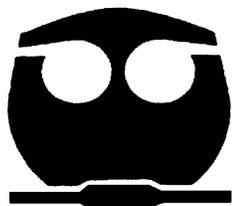
**SEGUIMIENTO DEL PRIMER TRASPLANTE DE
CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS
DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL A UN
PACIENTE PEDIÁTRICO REALIZADO EN MÉXICO
CON CÉLULAS MEXICANAS.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

ALMA GORETTY GARCÍA HERNÁNDEZ



MÉXICO D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Jurado asignado:

PRESIDENTE	FERNANDO GARCIA TAMAYO
VOCAL	EVA D. CALDERÓN GARCIDUEÑAS
SECRETARIO	CONSTANTINO III R. LOPEZ MACIAS
1 ^{ER} . SUPLENTE	PERLA D. MALDONADO JIMENEZ
2 ^{DO} . SUPLENTE	ARACELI MENDIETA RERGIS

Sitio en donde se desarrolló el tema:

**BANCO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL DEL CENTRO
NACIONAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUINEA E INSTITUTO
NACIONAL DE PEDIATRÍA**

Asesor del tema:

MASS. EVA D. CALDERÓN GARCIDUEÑAS

Sustentante:

ALMA GORETTY GARCÍA HERNÁNDEZ



Señor concededme la serenidad

Para aceptar las cosas que no puedo cambiar

El valor para cambiar las que si puedo y

La sabiduría para discernir entre la diferencia.

Señor mío Jesucristo que se haga tu voluntad y no la mía.



A DIOS

Por ser la fuerza más grande que existe y por darme la fortaleza necesaria para afrontar los momentos más difíciles de mi vida.

Gracias por mis padres, mis hermanos, mi hermana, mi esposo, mi familia, mis amigos, mis maestros, por todas las personas que de alguna forma influyeron en mí para ser la persona que hoy soy.

Sobre todo te agradezco por permitirme la dicha de ser madre y por medio de mi hijo conocer tu gran amor.

Te agradezco por permitirme llegar hoy hasta aquí y ver realizado un sueño que sin tu ayuda no se hubiera concretado.



A MI MADRE

Rogelia Hernández Dávalos

*Gracia mamá principalmente por traerme al mundo, por dar
tu cuerpo, tu tiempo y tu sufrimiento a fin de que yo
existiera.*

*Pero sobre todo te doy las gracias por estar a mi lado
incondicionalmente en mis alegrías pero sobre todo en los
momentos más difíciles y tristes que la vida ha puesto en mi
camino.*

*Lo que yo pueda decir es poco para expresarte el gran amor y
agradecimiento que siento por ti hoy y siempre.*

Gracias mamá te quiero



A MI PADRE

José García Gutiérrez

Gracias papá por ser uno de los pilares mas importantes en mi vida, y a pesar de que hoy la vida ha separado nuestros caminos te agradezco lo mucho que hiciste por mi y los consejos que alguna vez me diste y hoy te puedo decir que gracias a ellos no me he dejado vencer y aunque me tarde un poco logré uno de los objetivos que algún día tuvimos en común.

Gracias papá te quiero



A MI ESPOSO

Leopoldo Cruz Reyes

Polo, han sido ya muchos años juntos, años en los que hemos vivido muchas alegrías, pero también tristezas y momentos muy difíciles para ambos. Pero en este tiempo siempre he sentido tu amor y tu apoyo.

Quiero decirte que desde que te conozco has sido el hombre en el que me he recargado para no caer, primero como uno de mis mejores amigos y luego como el hombre con el que decidí compartir mi vida y con el que he logrado el proyecto más importante de mi existencia: nuestro hijo

Gracias por estar aquí y por ser mi compañero incondicional.

Te amo



A MI HIJO

Luis Ángel

Pequeño, eres el regalo más grande que dios me dio, y también eres el motor que me impulsa a levantarme cada mañana y seguir adelante.

Mi deseo más grande es llegar a ser para ti una buena madre y lograr hacer de ti si Dios me lo permite un buen hombre.

Este pequeño paso es por ti y espero que sea un estímulo para que el día de mañana, tu hagas mejores cosas que yo

Te amo



A MIS HERMANOS

Marco Antonio

José Alfredo

Luis Armando

Perla Vanessa

Todos y cada uno de ustedes son muy especiales en mi vida, con cada uno he compartido diferentes etapas, y de cada uno he aprendido diferentes lecciones, han sido mis compañeros de juego, pleitos, alegrías y tristezas, la vida nos ha deparado diferentes caminos, pero mi deseo más grande es estar siempre juntos como hasta ahora y a pesar de los baches, seguir caminando siempre hacia delante.

Los quiero



Y finalmente un agradecimiento muy especial

A LA UNAM

y

A LA FACULTAD DE QUÍMICA

A la máxima casa de estudios, ya que me acogió en sus brazos y por medio de sus profesores logró hacer de mí una persona preparada, dándome a manos llenas sus conocimientos y enseñándome a trabajar en esta carrera poniendo en práctica uno de los principios más importantes: la ética. Y sobre todo por fin permitir llamarme egresada.



A MI ASESORA

Eva D. Calderón Garcidueñas

Gracias por ayudarme a lograr este proyecto, por tu tiempo, por tu paciencia durante todo este período, sobre todo gracias por tus consejos y por brindarme tu amistad.

Al INP y

Al Dr. Alberto Olaya

Por su importante e invaluable participación en este caso clínico y sobretodo por el apoyo que año con año le brindan a un gran número niños que requieren de atención y de extensos conocimientos para lograr su recuperación.



A Mis sinodales

*Por su tiempo y apoyo para lograr concluir un circulo más de
los muchos que me esperan en la vida.*

¡¡ Muchas gracias. !!



INDICE

Introducción	1
Capítulo I Generalidades	4
Leucemias Aguda	4
Definición	4
Clasificación	5
Clasificación morfológica	5
Clasificación inmunológica	6
Clasificación citogenética	7
Leucemia Aguda linfoblástica de células T	9
Etiología	9
Cuadro clínico	10
Diagnóstico	11
Tratamiento	12
El trasplante hematopoyético	13
Clasificación del trasplante hematopoyético	14
Objetivos del trasplante hematopoyético	16
Células progenitoras hematopoyéticas	17
Clasificación	17
Fuente de progenitores hematopoyéticos	20



Células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre periférica movilizada	20
Ventajas y desventajas del alo-trasplante de CPH procedentes de SP movilizada sobre el trasplante hematopoyético de médula ósea	21
Células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical	22
Ventajas y desventajas de la sangre de cordón umbilical con respecto a la médula ósea	23
Características de las unidades de sangre de cordón umbilical aptas para trasplante	24
Obtención de la sangre de cordón umbilical	25
Procesamiento de la sangre de cordón umbilical	27
Criopreservación de la sangre de cordón umbilical	29
Búsqueda de las unidades de sangre de cordón umbilical	30
Quimerismo hematopoyético	31
Capitulo II Objetivos	34
Capitulo III Material y método	35



INDICE

Capítulo IV	Presentación del caso clínico	37
	Historia clínica	37
	Protocolo del trasplante	39
	Protocolo del banco de sangre de cordón umbilical para la infusión de los progenitores hematopoyéticos	42
Capítulo V	Resultados	44
	Serie roja	44
	Serie blanca	46
	Plaquetas	49
	Prueba de quimerismo	50
Capítulo VI	Análisis de resultados	51
Capítulo VII	Conclusiones	55
Anexos		57
Bibliografía		59

**INDICE DE TABLAS**

No. 1	Factores que aumentan el riesgo a padecer LAL	9
No. 2	Cuadro clínico característico de la LAL	10
No. 3	Datos de laboratorio característicos de la LAL	11
No. 4	Tratamientos más comunes utilizados en pacientes con LAL	12
No. 5	Clasificación del trasplante según su procedencia	14
No. 6	Clasificación del trasplante según el tipo de donante	15
No. 7	Ventajas y desventajas del alo-trasplante de CPH procedentes de SP movilizada sobre el trasplante hematopoyético de MO	22
No. 8	Ventajas y desventajas de la sangre de CU con respecto a la MO	23
No. 9	Criterios de aceptación de las USCU	24
No. 10	Criterios de exclusión para la donación de SCU	26
No. 11	Resultados de histocompatibilidad HLA por biología molecular	38
No. 12	Régimen de acondicionamiento	39
No. 13	Requerimientos mínimos de la unidad de trasplante	40
No. 14	Profilaxis de enfermedad injerto vs huésped	41
No. 15	Características de la unidad CNTS 010020 MX03	41
No. 16	Respuesta post-trasplante (hemoglobina) con respecto al tiempo (días)	45
No. 17	Respuesta post-trasplante (serie blanca) con respecto al tiempo (días)	46
No. 18	Respuesta post-trasplante (Neutrófilos absolutos) con respecto al tiempo (días)	48
No. 19	Respuesta post-trasplante (plaquetas) con respecto al tiempo (días)	49
No. 20	Resultados de la prueba de quimerismo	50

**INDICE DE FIGURAS**

No. 1	Aspiración de médula ósea	15
No. 2	Principales tipos de células madre	17
No. 3	Células madre totipotentes	18
No. 4	Evolución de una célula sanguínea	19
No. 5	Aseptización	27
No. 6	Venopunción	27
No. 7	Bolsa hermética	27
No. 8	Equipo Sepax-Biosafe	29
No. 9	Citómetro de flujo	29
No. 10	Bioarchive	30
No. 11	Unidad de búsqueda y gestión de datos	30
No. 12	USCU criopreservada	43
No. 13	Descongelación de la unidad	43
No. 14	Dilución v/v	43
No. 15	Volumen final (50 mL) de la USCU	43
No. 16	Infusión de la USCU	43



INDICE _____

INDICE DE GRAFICAS

No. 1	Respuesta post-trasplante (hemoglobina) con respecto al tiempo (días)	45
No. 2	Respuesta post-trasplante (serie blanca) con respecto al tiempo (días)	47
No. 3	Respuesta post-trasplante (neutrófilos absolutos) con respecto al tiempo (días)	48
No. 4	Respuesta post-trasplante (plaquetas) con respecto al tiempo (días)	49



**SEGUIMIENTO DEL PRIMER TRASPLANTE
DE CÉLULAS PROGENITORAS
HEMATOPOYÉTICAS
DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL
A
UN PACIENTE PEDIÁTRICO
REALIZADO
EN MÉXICO CON CÉLULAS MEXICANAS.**





INTRODUCCIÓN

El cáncer constituye la segunda causa de muerte en niños mexicanos de entre 1 y 14 años, después de los accidentes. Pero de entre todos los tipos de cáncer destaca la leucemia como el más frecuente entre los menores, pues representa casi la mitad de los casos. En México mueren, en promedio, entre 600 y 650 niños cada año por enfermedades graves. De estos casos, 55% ocurren por cáncer en sangre. De acuerdo con investigaciones del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), se han incrementado las enfermedades malignas y anualmente, en el país, se presentan entre cuatro mil y cuatro mil 500 casos en pequeños ²⁵. Según datos estadísticos realizados por el Instituto Nacional de Pediatría (INP) ¹⁶, en el 2006 murieron en México a causa de leucemia aguda linfoblástica (LAL) el 9.3% de niños que acudían a este hospital, como podremos darnos cuenta este es un gran problema en nuestro país y en el mundo entero. Sin embargo hace unos años este porcentaje era mayor ya que este tipo de pacientes no tenían muchas opciones de tratamiento por lo que sus esperanzas de vida eran muy pocas. En la actualidad y gracias a los avances médicos esto ha cambiado. Hoy los pacientes con este tipo de padecimientos tienen la posibilidad de recibir un trasplante de células progenitora hematopoyéticas (CPH), lo cual aumenta considerablemente sus expectativas de vida.

En octubre de 1988 se probó la eficacia de las CPH provenientes de sangre placentaria para su uso en trasplantes, con la finalidad de regenerar médula ósea, a partir de entonces se han realizado 8395 trasplantes de sangre de cordón umbilical en todo el mundo, según el último reporte de



INTRODUCCIÓN

NETCORD a julio del 2009 ⁴⁹ de los cuales 3586 se han realizado en niños y el resto en adultos. Una de las principales características en este tipo de trasplantes es que tienen una baja incidencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH), motivo que hace de la sangre de cordón umbilical una fuente muy atractiva para trasplantes.

Hace algunos años en México era casi imposible realizar este tipo de tratamientos, ya que el costo de conseguir CPH de otros países e importarlas era muy elevado y solo un pequeño grupo de la población mexicana lograba realizar un trasplante, he aquí la razón por lo cual México necesitaba contar con Bancos de Sangre de Cordón Umbilical (BSCU) a nivel gubernamental, uno de ellos vio la luz dentro del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea (CNTS) en Junio del 2003. A partir de entonces se ha realizado una ardua labor obteniendo una gran cantidad de unidades de CPH a las cuales se les han realizado innumerables pruebas basándose en los estándares internacionales de NETCORD, para garantizar la calidad y seguridad de que cada una de las Unidades de Sangre de Cordón Umbilical (USCU), con la finalidad de que en el momento que dichas unidades sean solicitadas, se puedan utilizar con toda confianza para realizar trasplantes y tratar de salvar un mayor numero de vidas y, lo más importante, a un menor costo para que así muchos niños mexicanos tengan acceso a este tipo de tratamientos.

El caso que se presenta en este trabajo es el primer trasplante de CPH de SCU que se realizó a un paciente pediátrico mexicano, utilizando células que fueron obtenidas de mujeres mexicanas, procesadas, validadas y criopreservadas en nuestro país por químicos y médicos mexicanos bajo la supervisión de instituciones internacionales de gran importancia como es NETCORD-FACT.



CAPITULO I

GENERALIDADES

Las leucemias agudas en pediatría representan alrededor del 98 al 99% de todas las leucemias, mientras que la única forma crónica (LMC) representa entre el 1 al 2%³⁴. Para fines de este estudio analizaré las leucemias agudas.

LEUCEMIA AGUDA

Definición

La leucemia es una enfermedad que afecta principalmente a los leucocitos también llamados glóbulos blancos. Estas células se originan a partir de las células madre en la médula ósea. La leucemia se presenta cuando el proceso de maduración de la célula madre a glóbulo blanco se distorsiona y produce un cambio canceroso. El cambio a menudo supone una alteración en el orden de ciertas partes de algunos cromosomas (el complejo material genético de la célula) llamado reordenación. Debido a que las reordenaciones cromosómicas (o translocación de cromosomas) perturba el control normal de la división celular, las células afectadas se multiplican sin cesar, volviéndose cancerosas. Finalmente ocupan toda la médula ósea y reemplazan a las células que producen las células sanguíneas normales afectando también la producción de glóbulos rojos y plaquetas. Estas células leucémicas (cancerosas) también pueden invadir otros órganos, como el



GENERALIDADES

hígado, el bazo, los ganglios linfáticos, los riñones, el cerebro y los testículos⁴⁴.

Clasificación

La mejor clasificación que puede hacerse de una leucemia aguda es la clasificación MIC (morfológica, inmunológica y citogenética)⁹.

Clasificación morfológica

En 1976, un grupo de investigadores franceses, americanos y británicos (FAB) propusieron los criterios para realizar la clasificación morfológica de las leucemias agudas. Ellos la dividieron en nueve tipos, tres de la estirpe linfoide² y seis de la estirpe mieloide ó no linfoide. Algunos años más tarde empezó la utilización de inmunorreactivos para clasificar células leucémicas, motivo por el cual los miembros de la FAB agregaron a la clasificación inicial dos variantes más de leucemia mieloblástica (M0 y M7), las cuales no pueden ser diagnosticadas únicamente por morfología ya que requieren estudios adicionales para ser definidas.

Actualmente se describen morfológicamente 11 tipos de leucemias que son reconocidas por la FAB.

Leucemias agudas linfoblásticas (LAL)

LA-L1	linfoblástica "típica"
LA-L2	linfoblástica "atípica"
LA-L3	parecida al linfoma de Burkitt



GENERALIDADES

Leucemias agudas mieloblásticas (LAM)

LA-M0	mieloblástica diferenciada mínimamente.
LA-M1	mieloblástica inmadura.
LA-M2	mieloblástica madura.
LA-M3	promielocítica hipergranular.
LA-M4	mielomonoblástica.
LA-M5	monoblástica Pura.
LA-M6	Eritroleucemia
LA-M7	Megacarioblástica

En la actualidad esta clasificación es poco práctica ya que se pueden cometer algunos errores diagnósticos y por lo tanto terapéuticos, pero gracias al uso de marcadores inmunológicos, al empleo de tinciones citoquímicas, a la citogenética y en algunos casos a la microscopía electrónica, es posible establecer con certeza la naturaleza de las células malignas y como consecuencia se puede efectuar un diagnóstico preciso y un tratamiento adecuado.

Clasificación inmunológica

Mediante los métodos inmunológicos es posible reconocer antígenos en la membrana celular⁹, los cuales son específicos para diferentes poblaciones de células, gracias a lo cual podemos clasificar a las LAL a través de sus características antigénicas en:

⇒ LAL de inmunofenotipo B que a su vez se divide en:



GENERALIDADES

- ◆ Pre-B temprana (inmunoglobulina no citoplásmica o de superficie).
- ◆ Pre-B (presencia de inmunoglobulina citoplásmica).
- ◆ Células B (presencia de inmunoglobulina de superficie).

⇒ LAL de inmunofenotipo T

LAL de inmunofenotipo B: Las células de inmunofenotipo B se definen mediante los marcadores CD19, HLA-DR, CD10 (cALLa) y otros antígenos asociados de las células B, estas representan del 80% al 85% de la LAL infantil ³².

LAL de inmunofenotipo T: La LAL de células T se define mediante la expresión de células leucémicas de las células T relacionadas a los antígenos CD2, CD7, CD5, o CD3 y está con frecuencia relacionada con una constelación de características clínicas entre las cuales se encuentran el sexo masculino, la edad avanzada, la leucocitosis, entre otras. Aproximadamente el 12% de los niños diagnosticados con LAL presentan el fenotipo de células T ^{28, 38}.

Clasificación citogenética

En muchos casos de leucemia aguda se encuentran alteraciones cromosómicas. En las leucemias linfoblásticas, la alteración cromosómica más frecuente es el cromosoma Filadelfia: t (9q+; 22q -) (q34.1; q11.2), que produce también un gen quimérico llamado BCR/ABL (breakpoint cluster región/Abelson) que codifica la síntesis de las proteínas p190 de leucemia linfoblástica. El cromosoma Filadelfia aparece en el 2% de los enfermos de LAL infantil e incluso en 25% de los casos de adultos ⁹.



GENERALIDADES

De acuerdo con el número de cromosomas se clasifican como:

- ∞ Hiperdiploidia (>50 cromosomas por célula o índice de ADN >1.16) es la presencia de copias adicionales de cromosomas completos y se presenta en el 20% al 25% de los casos de LAL de precursores B, pero raras veces en los casos de LAL de células T ²⁷. La hiperdiploidia se puede evaluar midiendo el contenido celular de ADN (índice ADN) o mediante cariotipo.
- ∞ *Trisomía*: Acorde a los enfoques utilizados por el antiguo Grupo de Oncología Pediátrica (POG, por sus siglas en inglés), y el antiguo Grupo de Cáncer Infantil (CCG, por sus siglas en inglés), las copias extras de ciertos cromosomas parecen estar relacionadas específicamente con un pronóstico favorable en los casos de LAL hiperdiploide. En dichos estudios se observa que los pacientes con células leucémicas que poseen copias extras de los cromosomas 4 y 10 parecen tener un pronóstico favorable. En cambio los pacientes con células leucémicas que poseen copias extras de los cromosomas 10 y 17 tienen un pronóstico excelente ^{12, 13}.
- ∞ *Hipodiploidia*: Aproximadamente un 1% de los niños con LAL presentan células leucémicas que muestran hipodiploidia con menos de 45 cromosomas. Estos pacientes corren un riesgo alto de no responder al tratamiento ¹¹.

El análisis de los diferentes tipos de leucemia es muy extenso por lo cual en este estudio me enfocaré únicamente a la leucemia linfoblástica de células T, ya que este fue el diagnóstico del paciente que analizaré posteriormente.



Leucemia aguda linfoblástica de células T

Es una enfermedad maligna progresiva, en la que las células que normalmente se transforman en linfocitos se tornan cancerosas y rápidamente reemplazan a las células normales que se encuentran en la médula ósea, se caracteriza por encontrar un gran número de linfoblastos en la sangre, la médula ósea, los ganglios linfáticos, el bazo y otros órganos ⁴⁴.

Etiología

Se han identificado pocos factores (tabla No. 1) que están relacionados con un aumento en el riesgo de padecer una leucemia aguda linfoblástica, sin embargo la causa precisa de padecer dicha enfermedad se desconoce ⁹.

Factores de riesgo
☞ Síndrome de Down
☞ Exposición prenatal a rayos X
☞ Exposición postnatal a algún tipo de radiación
☞ Exposición a derivados del benceno
☞ Exposición a algunos virus (retrovirus como HTLV-1 y HTLV-II)
☞ Tratamiento a base de agentes alquilantes

Tabla No. 1 Factores que aumentan el riesgo de padecer LAL

En la actualidad se sabe según estudios realizados por médicos del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional "siglo XXI", que el tabaquismo y el consumo de alcohol por parte del padre antes de la concepción de sus hijos eleva hasta tres veces el riesgo a engendrar un bebe



GENERALIDADES

con leucemia, esto debido a que este tipo de adicciones por parte del padre, producen mutaciones cromosómicas que ocasionan alteraciones de una proteína llamada Anti-8-oxo-dG, lo que puede provocar leucemia ⁷.

Cuadro clínico

Al igual que en otras enfermedades, la leucemia aguda linfoblástica tiene un cuadro clínico característico (tabla No. 2) producido por la falta de producción de células hemáticas normales, al ser sustituidas por células leucémicas en la médula ósea ⁴⁷.

Cuadro clínico característico
☞ Anemia (S. Anémico), palidez y fatiga
☞ Trombopenia (S. Hemorrágico)
☞ Neutropenia (S. Febril)
☞ Linfadenopatía moderada
☞ Esplenomegalia de leve a moderada
☞ Presencia de "dolores óseos" en niños
☞ Pérdida de peso
☞ Las LAL, a diferencia de las LAM, nunca están precedidas por mielodisplasias previas.
☞ Entre el 1-5% de los casos, se puede observar daño testicular o de SNC.

Tabla No. 2 Cuadro clínico característico de la leucemia aguda linfoblástica.



Diagnóstico

Después de una exploración médica que haga sospechar de una leucemia aguda linfoblástica es necesario contar con algunas pruebas de laboratorio confirmatorias para esta enfermedad (tabla No. 3) ⁴³.

<p>Sangre periférica (BH)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Anemia normocítica y normocrómica (bajo nivel de reticulocitos). ☞ Leucocitosis: más de 10.000 leucocitos/mm³ ☞ Leucopenia: En el caso de formas aleucémicas, entre 1.000 y 2.500 Leucocitos/mm³ ☞ Plaquetopenia: Pueden encontrarse valores entre 30.000 y 60.000 plaquetas/mm³
<p>Aspirado medular</p>	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Se encuentra una infiltración de la médula ósea por blastos linfoides en proporción igual o superior al 30%, y habitualmente se observa en proporción del 80 - 90% del total de células existentes en dicha médula ósea.
<p>Reacción a la mieloperoxidasa</p>	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Negativa
<p>Biopsia ósea</p>	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Se observan signos claros de invasión masiva (infiltración)
<p>Radiología</p>	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Nuevamente se pone de manifiesto la existencia de signos de infiltración ósea. ☞ Además se observa la presencia de masas adenopáticas en el tórax, es muy propio de la LAL de inmunofenotipo T.

Tabla No. 3 Datos de laboratorio característicos de leucemia aguda linfoblástica.



Tratamiento

Existen diversos protocolos para tratar las leucemias agudas linfoblásticas (LAL) (tabla No. 4)^{42, 43}.

Quimioterapia	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Consiste en la combinación de 3 a 8 medicamentos (predisona, vincristina, metrotexato, 6-mercaptopurina y ciclofosfamida, etc.) ☞ Se realiza en tres fases: <ol style="list-style-type: none"> a. Tratamiento de inducción b. Tratamiento de consolidación c. Tratamiento de mantenimiento
Radioterapia	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Se realiza con la finalidad de eliminar células leucémicas de SNC o LCR
Terapia de soporte	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Transfusiones de hematíes y plaquetas. ☞ Terapia antimicrobiana para evitar posibles infecciones, a base de antibióticos, antifúngicos y antivíricos. ☞ Sueroterapia y tratamiento de desequilibrios hidroeléctricos ☞ Alimentación parenteral para evitar la inanición secundaria a la falta de apetito que presentan los pacientes. ☞ Tratamiento del exceso del ácido úrico en sangre secundario a la enorme destrucción de células que conlleva la quimioterapia. ☞ Anti-vomitivos, ya que la quimioterapia suele producir gran cantidad de vómitos ☞ Medidas higiénicas en general y aislamiento del paciente en la medida de lo posible, para reducir al mínimo la posibilidad de contraer infecciones.
Bioterapia	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Son sustancias que promueven una respuesta antitumoral por parte del organismo.
Trasplantes	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Médula ósea ☞ Progenitores hematopoyéticos

Tabla No. 4 Tratamientos más comunes utilizados en pacientes con LAL.



El trasplante hematopoyético

El trasplante hematopoyético, conocido también como trasplante de progenitores hematopoyéticos es un procedimiento terapéutico mediante el cual se infunden células progenitoras hematopoyéticas con el propósito de establecer una hematopoyesis y una inmunidad normal. Este es un procedimiento de introducción relativamente reciente en la práctica clínica diaria, y es probablemente el motivo, por el cual sigue en plena evolución.

Históricamente contamos con datos que nos indican que por el año de 1891, Brow-Sequard CE utilizaba células de médula ósea vía oral como tratamiento en pacientes con anemia, pero fue hasta 1957, que E. Donnall Thomas realizó formalmente los primeros trasplantes de médula ósea en humanos ²². A partir de este suceso, las investigaciones iniciaron su tímida expansión mundial en la década de 1970 para experimentar un espectacular desarrollo en los años 1980, lo cual trajo como consecuencia la adquisición de nuevos conocimientos y por ende la optimización de las técnicas ya existentes.

Uno de los grandes descubrimientos fue la existencia de células progenitoras hematopoyéticas en la sangre de cordón umbilical, este descubrimiento se dio gracias a que algunos científicos observaron que al trasplantar altas concentraciones de células presentes en la sangre de animales recién nacidos a animales que habían sido expuestos a radiaciones en dosis letales, estos últimos eran capaces de reconstituir su hematopoyesis logrando así su supervivencia ¹⁴. Este trabajo fue extrapolado a la sangre de cordón umbilical en octubre de 1988 en París, por la Dra. Gluckman quien



GENERALIDADES

realizó el primer trasplante de células progenitoras hematopoyéticas HLA idénticas a un niño de 5 años con un diagnóstico de anemia de Fanconi, logrando la reconstitución completa de su sistema linfohematopoyético, demostrando así que las células hematopoyéticas presentes en la sangre del cordón umbilical tenían un alto potencial para reconstituir la función medular. Estas células progenitoras se obtuvieron del cordón umbilical de su hermanita. En la actualidad, este paciente goza de un perfecto estado de salud ^{14, 22, 24}.

Clasificación del trasplante hematopoyético

El trasplante hematopoyético se puede clasificar:

- Según la procedencia de las células progenitoras hematopoyéticas ²²

(tabla No. 5)

Medula ósea	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen mediante punciones múltiples de las crestas ilíacas posteriores, anteriores (figura No. 1) y, ocasionalmente, esternón o meseta tibial
Sangre periférica movilizada	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen mediante aféresis, después de su movilización con factores estimulantes de colonias ó quimioterapia a bajas dosis.
Cordón umbilical	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen mediante punción de la vena umbilical inmediatamente después del nacimiento.

Tabla No. 5 Clasificación del trasplante según su procedencia



Figura No. 1 Aspiración de médula ósea ⁴².

☞ Según el tipo de donante ²² (tabla No. 6)

Autogénico ó autólogo	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen a partir del propio paciente, regularmente después de su nacimiento o antes de detectar cualquier signo de enfermedad.
Singénico ó isogénico	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen a partir de un gemelo univitelino.
Alogénico	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen a partir de un individuo de la misma especie y puede ser: ☞ Emparentado, donante familiar al receptor -HLA idéntico- ☞ No emparentado.
Xenogénico	Las células progenitoras hematopoyéticas se obtienen a partir de un individuo de distinta especie.

Tabla No. 6 Clasificación del trasplante según el tipo de donante.



Objetivos del trasplante hematopoyético

Los objetivos de cada uno de los tipos de trasplantes antes mencionados son dos principalmente:

- ✎ Sustituir la hematopoyesis del paciente por ser total o parcialmente defectuosa, insuficiente o neoplásica;
- ✎ Permitir un tratamiento antineoplásico en dosis muy elevadas, que originarían mielo depresión prolongada o definitiva. Este aspecto se fundamenta en el hecho de que ciertos tumores precisan para su curación un tratamiento de intensidad superior a la que causa mieloablación, pero inferior a la que origina muerte por toxicidad extrahematológica. Además, en el trasplante de progenitores hematopoyéticos a partir de un donante sano, la celularidad inmunocompetente derivada del injerto es capaz de contribuir al efecto antitumoral, sobre todo en el caso de enfermedad mínima residual (EMR). Este efecto se conoce como reacción del injerto contra la neoplasia, habitualmente frente a la leucemia.



Células progenitoras hematopoyéticas

Las células progenitoras hematopoyéticas también conocidas como células madre o células troncales son un tipo especial de células que tienen la capacidad de dividirse indefinidamente así como de diferenciarse para producir células especializadas. Gracias a esta cualidad pueden regenerar los principales componentes de la sangre e inclusive a la médula ósea en su totalidad y al sistema inmunológico cuando éstos están seriamente afectados por una enfermedad ^{1, 48}, más se ha comprobado que tienen la potencialidad de regenerar otras células vitales para el organismo tales como células cardíacas, hepáticas, del páncreas, etc. ²³

Clasificación

De acuerdo al estadio de maduración en el que se encuentran, se puede decir que existen 3 tipos de células madre principales. Lo anterior se puede explicar mediante el siguiente esquema (Figura No. 2) ⁴⁸:

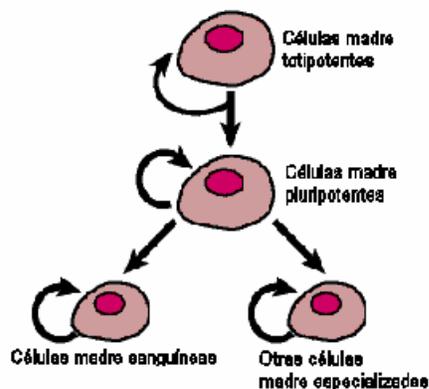


Figura No. 2 Principales tipos de células madre



GENERALIDADES

Una **célula madre totipotente** (Figura No. 3) es aquella capaz de crear un individuo completo. Un ejemplo muy claro de este tipo de célula es un óvulo fecundado por un espermatozoide ya que esta célula está capacitada para dar origen a un nuevo ser. Esta célula empieza a dividirse y las células procedentes de este proceso durante los siguientes tres días se consideran también células totipotentes ya que cada una de estas células al separarse podría generar otro individuo completo⁴⁸.



Figura No. 3 Células madre totipotente (óvulo fecundado)

A partir del cuarto día del desarrollo embrionario humano se forma el blastocito, el cual está formado por dos capas:

- ☞ Una capa externa cuya función es, la formación de la placenta y los tejidos necesarios para el desarrollo fetal. Y
- ☞ Una capa interna que será la responsable de formar todos los tejidos del cuerpo humano.

Las células del blastocito ya no son totipotentes, puesto que una sola de estas células ya no tiene la capacidad de generar un individuo completo. Las células de la capa interna del blastocito se denominan **células pluripotentes**, porque si bien son capaces de generar todos los tejidos de un individuo adulto, no pueden generar la placenta ni otros tejidos necesarios para el desarrollo del embrión⁴⁸.

Estas células pluripotentes generarán, a su vez, **células madre especializadas** con una función concreta, como por ejemplo: células madre de médula ósea que producirán células sanguíneas como glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas (Figura No. 4); otro ejemplo serian las células madre de la piel⁴⁸.

Evolución de una célula sanguínea:

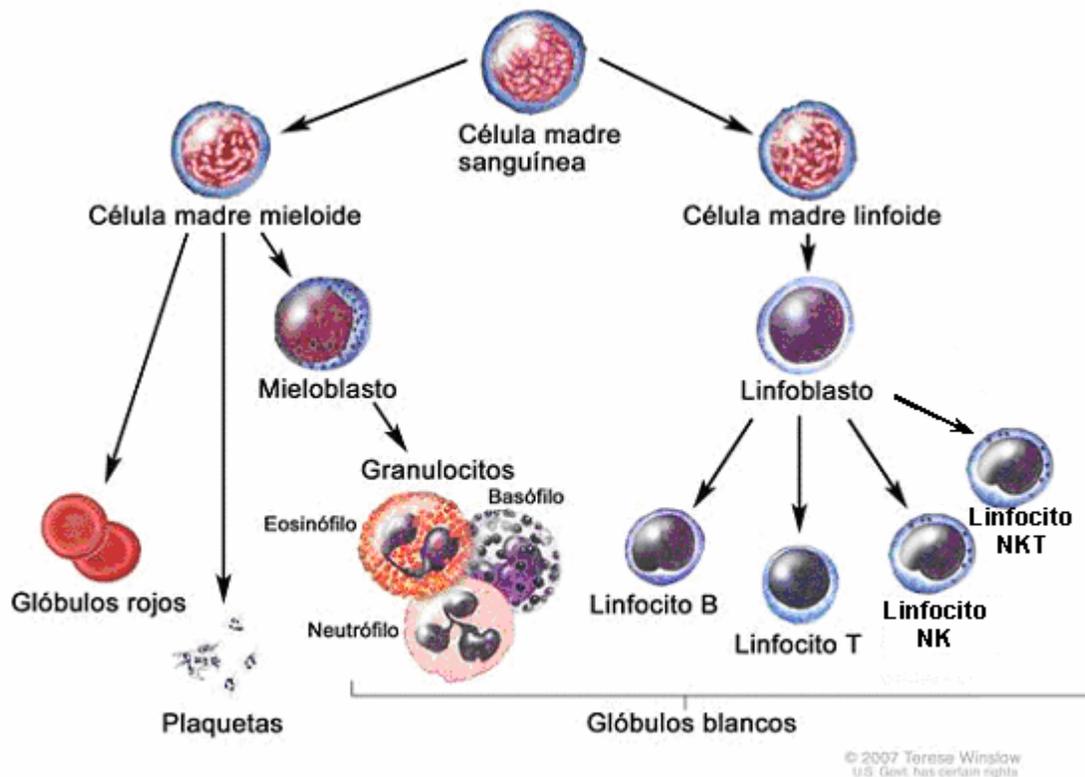


Figura No. 4 Evolución de una célula sanguínea⁴⁶

Es importante saber que las células progenitoras hematopoyéticas expresan en su superficie, un antígeno particular que permite su identificación ya que morfológicamente esto es imposible, este es el antígeno CD34 el cual fue descubierto a mediados de los años 80's, y que en la



GENERALIDADES

actualidad es considerado como marcador universal para este tipo de células. Gracias a este antígeno se ha logrado además de la identificación de células progenitoras hematopoyéticas, su purificación y caracterización mediante estudios inmonofenotípicos. Es de vital importancia mencionar que este antígeno se encuentra presente en todas las células progenitoras hematopoyéticas inmaduras y está ausente en casi todas las células hematopoyéticas diferenciadas⁵.

La expresión de este antígeno en la superficie de las células progenitoras hematopoyéticas ha llegado a ser el mecanismo de identificación usado como base para el contaje, aislamiento y manipulación de estas células, actualmente el método de elección para su cuantificación es la citometría de flujo, ya que este procedimiento se puede realizar en menos de una hora, razón por la cual la metodología es rápida, objetiva y cuantitativa.

Fuentes de células progenitoras hematopoyéticas

Cuando E. Donnall Thomas realizó los primeros trasplantes en humanos de células progenitoras hematopoyéticas, la fuente de estas células fue la médula ósea, sin embargo con el paso del tiempo y gracias a las constantes investigaciones, se descubrieron otras fuentes de células progenitoras hematopoyéticas igualmente importantes, con grandes ventajas para el receptor así como para el donador.

Células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre periférica movilizada



GENERALIDADES

Como se mencionó anteriormente, para obtener las células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica es necesario realizar una movilización de estas. Esto se hace, aplicándole al donador factores estimulantes de colonias ó quimioterapia a bajas dosis y posteriormente se obtienen por medio de aféresis.

El primer alo-trasplante de células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre periférica movilizada se efectuó en 1989, por Kessinger, a un paciente con una leucemia aguda linfoblástica en tercera remisión completa. En ese momento no se le administraron al donador tratamientos de movilización y se le realizaron 10 aféresis²².

Cuatro años más tarde, Russell y Dreger describieron otros alo-trasplantes, pero esta vez administrando el factor estimulador de las colonias de granulocitos (G-CSF) al donador como agente de movilización.

Para 1997, en España el número de trasplantes hematopoyéticos realizados con células procedentes de sangre periférica movilizada era mayor a los trasplantes de médula ósea²².

Ventajas y desventajas del alo-trasplante de células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre periférica movilizada sobre el trasplante hematopoyético de médula ósea (Tabla No. 7).

Ventajas	Desventajas
A. El método de obtención es menos agresivo para el donador.	A. Es necesaria la administración de G-CSF a un donante sano. B. En algunos donadores es necesario colocar



GENERALIDADES

<p>B. Se obtienen un mayor número de células progenitoras hematopoyéticas</p> <p>C. La recuperación hematopoyética es más rápida.</p> <p>D. La recuperación inmunológica es más rápida.</p>	<p>un catéter venoso central.</p> <p>C. La obtención de sangre periférica conlleva una pérdida significativa de plaquetas, lo cual aumenta el riesgo de una posible trombocitopenia.</p> <p>D. El riesgo de desarrollar la enfermedad mínima residual es mayor.</p>
--	---

Tabla No. 7 Ventajas y desventajas del alo-trasplante de CPH procedentes de SPM sobre el trasplante hematopoyético de MO

Células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical

En el año de 1974, Knudtzon publicó una investigación en la que demostraba por primera vez la presencia de células progenitoras hematopoyéticas circulantes en la sangre de cordón umbilical ^{6, 31}, sin embargo fue hasta 1988 cuando se describió ampliamente su eficacia para su uso en trasplantes, es importante saber que estas células se encuentran presentes al momento del nacimiento pero desaparecen pocos días después ²⁴, esta es la razón por la cual su obtención se realiza mediante punción de la vena umbilical inmediatamente después del nacimiento. Recordemos que en este mismo año se realizó el primer trasplante de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de sangre de cordón umbilical, a partir de ese momento y hasta julio del 2009, según el último reporte de NETCORD se han realizado 8395 trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas



GENERALIDADES _____

procedentes de sangre de cordón umbilical tanto en niños como en adultos

49

Ventajas y desventajas de la sangre de cordón umbilical con respecto a la médula ósea (Tabla No. 8).

Ventajas ^{18, 20, 22}	Desventajas ^{22, 39-41}
<p>A. Abundancia y facilidad de obtención sin riesgo para los donadores.</p> <p>B. Disponibilidad inmediata de las unidades, en cuanto sean requeridas por el centro de trasplantes.</p> <p>C. Bajo riesgo de enfermedades infecciosas transmisibles.</p> <p>D. Mayor actividad clonogénica de las células progenitoras hematopoyéticas.</p> <p>E. Mayor posibilidad de encontrar un producto adecuado para pacientes de minorías étnicas.</p> <p>F. Menor reactividad inmunológica. A igualdad de disparidad genética, mayor tolerancia y menor EICH que en médula ósea.</p> <p>G. Posibilidad de utilizar SCU no totalmente histocompatible en el sistema HLA. Según EUROCORD mínimo 4 identidades en 6 alelos mayores (A, B y DRB1)</p> <p>H. Intervalo de tiempo más corto de regeneración de la hematopoyesis posterior al trasplante.</p> <p>I. Menor costo económico que las búsquedas de médula ósea.</p> <p>J. Evita someter a un donante sano a una anestesia general para la colecta de médula ósea.</p>	<p>A. Imposibilidad de una 2ª donación en caso de fallo del implante.</p>

Tabla No. 8 Ventajas y desventajas de la SCU con respecto a la MO



Características de las unidades de sangre de cordón umbilical aptas para trasplante

Para que una unidad de sangre de cordón umbilical pueda ser trasplantada, es necesario que cumpla con criterios de aceptación establecidos por Organizaciones Internacionales como NETCORD ⁶ (tabla No. 9), tales como:

Parámetro	Criterio de aceptación
Volumen recolectado (mL)	> 80
Células nucleadas totales iniciales	> 8×10^8
Cuenta inicial de Células nucleadas/mL	$7-20 \times 10^6$
% CD34+ totales	0.1 – 0.30 %
% CD34+ viables	0.1 – 0.30 %
% de recuperación	> 60 %

Tabla No. 9 Criterios de aceptación de las unidades de sangre de cordón umbilical

NETCORD es una organización internacional formada por bancos de sangre de cordón umbilical de larga experiencia de Estados Unidos, Europa, Japón y Australia, fue creada en 1998 en Milán Italia, con el propósito de estandarizar a los bancos de sangre de cordón umbilical para mejorar la calidad de las unidades almacenadas. Este grupo ha elaborado estándares que contemplan regulaciones nacionales e internacionales, ha establecido estatutos con el fin de mejorar los estudios e investigaciones en los procedimientos del banco de sangre de cordón umbilical y además brinda la oportunidad de buscar en un inventario mundial virtual la unidad de sangre requerida por cualquier banco que este dentro de esta organización ^{3, 10, 26}.



Obtención de la sangre de cordón umbilical

La obtención de la sangre de cordón umbilical esta bajo responsabilidad del Banco de Sangre de Cordón Umbilical.

Actualmente la técnica de recolección que ha dado los mejores resultados es la técnica de Broxmayer, la cual se caracteriza por ser simple y rápida, además de que no interfiere con las prácticas obstétricas rutinarias al momento del nacimiento.

Dicha técnica consta de los siguientes puntos:

- 1.** Preparación del campo operatorio en condiciones de máxima asepsia.
- 2.** Asistencia normal del recién nacido por parte de la unidad de ginecología.
- 3.** Doble pinzaje del cordón umbilical antes de 30 segundos (pinzaje precoz).
- 4.** Sección del vínculo materno-fetal.
- 5.** Separación del recién nacido
- 6.** Aseptización (figura No. 5)
- 7.** Identificación de la zona de punción.
- 8.** Venopunción (figura No. 6)
- 9.** Recolección por gravedad con agitación.

Es importante mencionar que antes de realizar la recolección de la sangre de cordón umbilical, el personal capacitado del banco tiene que seguir un protocolo que consiste en:



GENERALIDADES _____

- a)** Realizar un monitoreo de todas las futuras madres y de acuerdo a los criterios de exclusión (tabla No. 10) del banco, decidir quienes serán las posibles donadoras.

Antecedentes de la gestante	Características del parto
<ul style="list-style-type: none">☞ Anemia: hemoglobina (Hb) inferior a 10 g/L☞ Factores de riesgo hepatitis viral o infección por HIV☞ Transfusiones previas realizadas durante el año☞ Enfermedades neurodegenerativas☞ Enfermedades auto inmunes☞ Enfermedades neoplásicas☞ Enfermedades genéticas☞ Ingestión de drogas☞ Tener tatuajes o perforaciones recientes☞ Ruptura de membranas antes de ingresar a la unidad materna.	<ul style="list-style-type: none">☞ Evidencia de infección activa (fiebre materna superior a 38°C). Septicemia, enfermedades víricas o fúngicas.☞ Gestación menor a las 34 semanas☞ Isoinmunización☞ Sufrimiento fetal☞ complicaciones obstétricas

Tabla No. 10 Criterios de exclusión

- b)** Dar una amplia explicación a las posibles donadoras acerca del programa de donación de la sangre de cordón umbilical, el procedimiento de recolección de la unidad, el destino de la misma y los beneficios y prejuicios que existen al realizar la donación.
- c)** Si la futura madre acepta pertenecer al programa de donación de sangre de cordón umbilical, es necesario anotar sus datos personales en una hoja de consentimiento informado con la finalidad de tener toda la información posible de la donadora.

GENERALIDADES

d) Después de la recolección de la unidad de sangre de cordón umbilical, esta se guarda en una bolsa hermética que se deposita dentro de un contenedor especial a temperatura ambiente. Dicha bolsa hermética debe contener además de la unidad de sangre de cordón, un fragmento de cordón umbilical, sangre periférica de la madre, documento de consentimiento informado, firmado por la madre, el informante y testigos, así como también el registro de recolección en la sala de partos firmado por el médico responsable de la recolección de la unidad (figura No. 7). Este contenedor especial se envía al banco de sangre de cordón umbilical dentro de las siguientes 24 horas para su procesamiento y almacenamiento.



Figura No. 5 Aseptización



Figura No. 6 Venopunción



Figura No. 7 bolsa hermética

Procesamiento de la sangre de cordón umbilical

En el banco de sangre de cordón umbilical se realiza el procesamiento de manera automatizada en cada una de las unidades de sangre de cordón umbilical que se reciben, para lo cual se utilizan equipos y dispositivos sofisticados.



GENERALIDADES

El procesamiento de la unidad de sangre de cordón umbilical se basa en la reducción de volumen por agotamiento del plasma y eritrocitos (por sedimentación), sin pérdidas significantes de células nucleadas. Este procesamiento de la unidad de sangre de cordón umbilical debe ser llevado a cabo de acuerdo a Procedimientos Normalizados de Operación (PNO) validados.

El procesamiento de las unidades de sangre de cordón en el banco siguen los siguientes pasos:

- 1.** Se realiza un conteo celular inicial de células nucleadas por biometría hemática, con la finalidad de comprobar si la unidad es apta para ser procesada.
- 2.** Separación de las células nucleadas por medio de una centrifugación y concentración celular que se realiza con el equipo Sepax-Biosafe (figura No. 8), de forma automatizada y en un ambiente estéril ⁴⁵. Este sistema está basado en la separación por centrifugación de acuerdo a la densidad y tamaño de las partículas sanguíneas, lo que permite que las células progenitoras hematopoyéticas puedan ser separadas de la sangre de cordón umbilical, reduciendo el volumen inicial recolectado (80 – 150 mL) hasta 20 mL ^{35, 45}. En este paso se utiliza el HES (hidroxi-etil almidón) con la finalidad de inducir una rápida sedimentación de los eritrocitos, además de que contribuye para mantener la viabilidad celular posterior a la criopreservación ³⁵.
- 3.** El producto final (20 mL) es recolectado directamente en la bolsa de congelación y se encuentra listo para la adición del DMSO (Dimetil sulfóxido) como crioprotector a una temperatura de 4°C.



GENERALIDADES

- Al final se realiza un conteo celular que se basa en la cuantificación del marcador CD34+ y se realiza por citometría de flujo (figura No. 9).



Figura No. 8 Equipo Sepax-Biosafe



Figura No. 9 Citómetro de flujo

Para la validación de las unidades de sangre de cordón umbilical procesadas, es necesario que las unidades cumplan con los parámetros establecidos por NETCORD (tabla No. 9).

Criopreservación de la sangre de cordón umbilical

Para realizar la criopreservación es necesario adicionar a la unidad de células nucleadas un crioprotector, en este caso, el más utilizado es el DMSO. Los crioprotectores son sustancias que protegen del daño que se pueda producir en las células debido a la congelación. El modo de acción de los crioprotectores es muy complejo; su efecto protector proviene de su habilidad para vincularse con el agua lo que evita la formación de cristales de hielo que pueden dañar los organelos intracitoplasmáticos, además de que tienen la capacidad de reducir los efectos tóxicos producidos por las altas concentraciones de sales y de solutos ³⁶.



GENERALIDADES

La criopreservación y almacenamiento dentro del banco de sangre de cordón umbilical se realiza mediante un sistema de congelación controlada y automatizada Bioarchive (termogénesis TG3626) (figura No. 10), en el cual el almacenamiento es de forma individual en nitrógeno líquido a -196°C ⁴⁵.



Figura No. 10 Bioarchive

Búsqueda de las unidades de sangre de cordón umbilical.

El banco de sangre de cordón umbilical cuenta con archivos perfectamente organizados de los datos de todas y cada una de las unidades de sangre de cordón umbilical con la finalidad de acceder a ellos en el momento en que sea requerida cualquier información (Figura No. 11).



Figura No. 11 Unidad de búsqueda y gestión de datos



Quimerismo hematopoyético ³³

El concepto de quimerismo en la medicina se remonta a los orígenes de los trasplantes de órganos: un paciente trasplantado se convierte en una quimera porque posee órganos de dos seres vivos genéticamente diferentes.

En Hematología, el término quimerismo se refiere a la presencia de células linfohematopoyéticas no propias del receptor que aparecen como resultado de un trasplante alogénico. Para que este fenómeno tenga lugar, es necesaria la inmunosupresión, mieloablación o inmunodeficiencia en el receptor y la presencia de células hematopoyéticas del donante.

El estudio del quimerismo linfohematopoyético ha salido del marco de los laboratorios de investigación y se ha convertido en una importante herramienta clínica en la evaluación del éxito o fracaso de los trasplantes de células hematopoyéticas. Mediante estos estudios, podemos conocer si el sistema linfohematopoyético del donante ha sido capaz de implantarse en el receptor y si lo ha hecho desplazando al sistema linfohematopoyético del receptor o coexistiendo en equilibrio con este. De esta manera, mediante determinaciones secuenciales, es posible conocer la evolución o comportamiento de la quimera con vistas a confirmar el fallo primario del injerto, o conocer, antes que otros indicadores se manifiesten, que puede haber un fallo secundario del mismo. Además, podemos estudiar los efectos de los diferentes regímenes de acondicionamiento y terapias de profilaxis sobre la toma o fallo del injerto, así como relacionar el grado de quimerismo establecido con la enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) y la actividad de injerto contra leucemia (AICL).



GENERALIDADES

Atendiendo a la presencia de células del donante en el receptor, el quimerismo puede clasificarse como:

- ☞ Quimerismo total o completo (QC): donde todas las células que se detectan proceden del donante.
- ☞ Quimerismo mixto (QM): Si la erradicación es parcial y no se destruye completamente la hematopoyesis del paciente, es decir, si coexisten células del donante y células del receptor, se habla de una *quimera mixta* (QM), en este caso la células del paciente pueden ser todas sanas, o bien persistir células leucémicas (en el caso de neoplasias hematológicas) que pueden provocar la recaída de la enfermedad. Estas células leucémicas constituyen lo que se conoce como *enfermedad mínima residual* (EMR)
- ☞ Quimerismo dividido: cuando una o más líneas celulares proceden en su totalidad del donante y a su vez una o más proceden totalmente del receptor.
- ☞ Microquimerismo: en el que existe menos del 1 % de células del donante. Este grado de quimerismo solo se puede detectar cuando se utilizan técnicas muy sensibles.

De esta clasificación se deduce que:

- ☞ El tipo o grado de quimerismo encontrado en un momento dado, depende de la sensibilidad de la técnica empleada.
- ☞ Que es necesario analizar el quimerismo en las diferentes líneas celulares.
- ☞ Y que el quimerismo dividido solo es posible detectarlo cuando separamos las líneas celulares para su análisis.



GENERALIDADES

Es necesario conocer el origen de la población celular que esta regenerando la médula ósea sustituida, con el fin de adoptar las medidas terapéuticas más adecuadas en cada momento.

Una quimera establecida como completa en los primeros días después del trasplante, puede evolucionar a quimera mixta e incluso desaparecer, lo que se traduciría finalmente en un fallo del injerto. Por otra parte, el estado de quimera mixta puede evolucionar hacia el fallo del injerto, si predominan las células del receptor o hacia el estado de quimera completa con predominio casi absoluto (98 a 100 %) de la hematopoyesis del donante. Por lo tanto, dado que el estado de quimera puede variar en el tiempo, es importante monitorear su evolución.



CAPITULO II

OBJETIVOS

Objetivo general

- ☞ Analizar la importancia que tiene el Banco de Sangre de Cordón Umbilical en apoyo al trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Objetivo particular

- ☞ Realizar el seguimiento y analizar los resultados del primer trasplante realizado en México con células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical de donador mexicano.



CAPITULO III

MATERIAL Y MÉTODO

La metodología empleada para la recolección, procesamiento y criopreservación de las células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical se realizó de manera totalmente automatizada, bajo la responsabilidad de personal del banco de sangre de cordón umbilical.

Conjuntamente se contó con la participación de diferentes hospitales de la Secretaría de Salud, para la correcta obtención de las unidades de sangre de cordón umbilical.

La recolección de sangre de cordón umbilical se realizó en unidades maternas validadas por el banco de sangre de cordón umbilical como son: Hospital General de México, Hospital de la Mujer, Hospital Juárez de México, entre otros; con el consentimiento informado y signado por la madre. El procedimiento de recolección se efectuó después del nacimiento del bebé con un doble pinzaje del cordón umbilical, asepsia y punción de la vena umbilical, con la placenta *in útero*, se efectuó la recolección de la sangre por gravedad en una bolsa estéril especial para sangre de cordón umbilical, con solución anticoagulante CPD (Grifols de México SA de CV).

La unidad recolectada fue transportada en fresco al banco de sangre de cordón umbilical dentro de las primeras 24 horas, para su procesamiento. El



MATERIAL Y MÉTODO

procesamiento de la sangre de cordón umbilical se realiza utilizando un sistema de separación y concentración celular automatizado (equipo Sepax-Biosafe, Eysins Suiza); un sistema automático (Cool-Mix Biosafe, Eysins Suiza) para la adición del criopreservante Dimetil sulfóxido (DMSO, Protide, St Paul Minnesota, EUA) bajo temperatura y tiempo controlado ³⁵.

Para la criopreservación de células progenitoras hematopoyéticas se utiliza el sistema de congelación controlada con almacenamiento final en nitrógeno líquido a -196°C (Bioarchive SYATEM tg3626, termogénesis, Rancho Córdoba, CA. EUA); al final la unidad de células progenitoras hematopoyéticas contiene 10% de DMSO, 1% de Dextrán 40 y 0.8% de Hespan (Pisa, México) como agentes criopreservantes.

Los estudios de validación que se realizan incluyen: cuenta de células nucleadas iniciales y finales, determinación de CD34+ y viabilidad celular por citometría de flujo, estudios serológicos, microbiológicos, tipificación del sistema ABO/Rh y HLA por técnicas de biología molecular ^{29, 30, 37}.

Para que la unidad de sangre de cordón umbilical pudiera ser infundida al paciente, se descongeló 30 minutos antes de la infusión, se realizó un acondicionamiento con un buffer.

Dilución v/v con una solución de Rheomacrodex-albúmina (pisa-Grifols México).



CAPITULO IV

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

El primer trasplante de células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical obtenidas a partir de donadoras mexicanas, se realizó el 16 de marzo del 2004 en el Instituto Nacional de Pediatría de la ciudad de México.

El trasplante se realizó a un paciente masculino de 10 años de edad, originario del estado de Guerrero el cual fue diagnosticado con una Leucemia Aguda Linfoblástica de células T en enero de 1997.

Historia clínica

En 1997 ingresó al Instituto Nacional de Pediatría un paciente masculino de 3 años de edad con un diagnóstico de leucemia Aguda linfoblástica de células T (CD2: 67.2%, CD5: 42%, CD10: 91.5%, CD19: 25%, CD20: 13%, HLDR: 59.3%, TDT: 39.6%, CD33: 23.7%); se le inició esquema de tratamiento para este tipo de leucemia, POG 94 logrando inducción a la remisión en el día 14. En la semana 23 recibió radioterapia a cráneo 18Gy. El 18 de diciembre se realiza el cese electivo de la quimioterapia iniciando vigilancia; la cual se mantiene por 48 meses.

El 11 de enero del 2000 presenta recaída a médula ósea. El sistema nervioso central así como los testículos se encontraron sin evidencia de



PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO _____

enfermedad. Se realiza nuevo inmunofenotipo corroborando el linaje T y cariotipo: t(8; 19) (q13;?), con lo cual se decide iniciar protocolo de reinducción con esquema XIII. La médula ósea al día 14 presenta persistencia de 14% de blastos por lo que se reinduce logrando la remisión. Ante la recaída y la dificultad para lograr la reinducción del paciente, se discute el caso en sesión de caso problema concluyendo que el paciente es candidato a trasplante de médula ósea por lo que se presenta como candidato al programa. Se realizan estudios de histocompatibilidad sin encontrar donador por lo que continua con tratamiento convencional llegando a concluir el tratamiento e iniciando vigilancia en diciembre del 2000. Sin embargo en mayo del 2003 presenta una nueva recaída a médula ósea, por lo que se inicia nuevamente el esquema de reinducción por protocolo BFM 90 y en octubre del mismo año, se solicita búsqueda de donador de progenitores hematopoyéticos no relacionado al Banco de Sangre de Cordón Umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, encontrándose una unidad histocompatible 3/6 (tabla No. 11).

HLA del paciente	A29(19)	B44(12)	DR13(6)
	A30	B27	DR7
HLA de la unidad de sangre de cordón umbilical	A29(19)	B44(12)	DR13(6)
	A2	B8	DR4

Tabla No. 11 Resultados de histocompatibilidad HLA por biología molecular

Después de la discusión al interior del comité de trasplante de médula ósea del Instituto Nacional de Pediatría, se decide iniciar evaluaciones por aparatos y sistemas para ingresar al protocolo de trasplante.



PROTOCOLO DEL TRASPLANTE

El 08 de marzo del 2004 inicia el protocolo de preparación (tabla No. 12), con esquema de mieloablación con radioterapia corporal total de manera ambulatoria sin efectos secundarios, el 12 de marzo del mismo año, el paciente ingresa a la unidad de trasplante (tabla No. 13), para recibir quimioterapia con CFM, ATGAM e inicio de profilaxis de Enfermedad Injerto Contra Huésped (tabla No. 14), el 16 de marzo de 2004 se realiza infusión de progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea (Unidad CNTS 010020 MX03) (tabla No. 15).

Días	Fecha	Tratamiento
-8	8 marzo 04	TBI (150 cGy x 1)
-7	9 marzo 04	TBI (150 cGy x 2)
-6	10 marzo 04	TBI (150 cGy x 2)
-5	11 marzo 04	TBI (150 cGy x 2)
-4	12 marzo 04	TBI (150 cGy x 2) Ingresa a la UTMO
-3	13 marzo 04	Ciclofosfamida 60mg/Kg con 150% de mesna. Metilprednisolona 2.5mg/Kg/día/3 dosis Globulina antitimocito (equina) 30 mg/kg 1vez al día
-2	14 marzo 04	Ciclofosfamida 60mg/kg con 150% de mesna. Metilprednisolona 2.5mg/kg/día/3 dosis Globulina antitimocito (equina) 30 mg/kg 1 vez al día
-1	15 marzo 04	Metilprednisolona 2.5mg/kg/día/3 dosis Globulina antitimocito (equina) 30 mg/kg x1 vez al día
0	16 marzo 04	Metilprednisolona 2.5mg/kg/día/3 dosis Globulina antitimocito (equina) 30 mg/kg x1 vez al día

Tabla No. 12 Régimen de acondicionamiento



Características	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Habitaciones individuales con filtros HEPA ☞ Encontrarse en un Hospital preparado para la atención de pacientes ambulatorios y la administración de quimioterapia y hemoderivados
Personal	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Debe de contar con Hematólogo, Oncólogo, Internista o Pediatra con experiencia en Hematología y Oncología. ☞ Suficiente personal de enfermería capacitado para tratar a este tipo de pacientes. ☞ Disponibilidad de Psicólogo, Dietista, Asistente Social, etc.
Unidades de apoyo	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Laboratorio de Histocompatibilidad ☞ Servicio de Radioterapia ☞ Laboratorio de Microbiología ☞ Laboratorio de Hematología y Bioquímica, 24 horas/día ☞ Laboratorio de Citogenética ☞ Banco de sangre, 24 horas/día ☞ Servicio de Farmacia ☞ Servicio de Urgencias, 24 horas/día ☞ Contacto telefónico con el especialista, 24 horas/día

Tabla No. 13 Requerimientos mínimos de la unidad de trasplante.



Medicamento	Dosis	Días
Ciclosporina A. IV	5 mg/Kg/día	-2 al +3
Ciclosporina A. IV	3 mg/Kg/día	+4 al +15
Ciclosporina A. IV	3.75 mg/Kg/día	+16 al +35
Ciclosporina A. VO	10 mg/Kg/día	+36 al +83
Ciclosporina A. VO	8 mg/Kg/día	+84 al +97
Ciclosporina A. VO	6 mg/Kg/día	+98 al +119
Ciclosporina A. VO	4 mg/Kg/día	+120 al +180
Metilprednisolona IV	0.5 mg/Kg/4 dosis	+7 al +14
Metilprednisolona IV	1.0 mg/Kg/4 dosis	+15 al +28
Metilprednisolona VO	0.8 mg/Kg/4 dosis	+29 al +42
Metilprednisolona VO	0.5 mg/Kg/4 dosis	+43 al +56
Metilprednisolona VO	0.2 mg/Kg/4 dosis	+57 al +119
Metilprednisolona VO	0.1 mg/Kg/4 dosis	+120 al +180

Tabla No. 14 Profilaxis de enfermedad injerto vs huésped

Parámetro	Unidad SCU
Volumen recolectado (mL)	121
Volumen final de criopreservación (mL)	25
Células nucleadas totales finales x 10 ⁸	5.98
CD34+ totales x 10 ⁶	1.14
CD34+ viables x 10 ⁶	1.1
% de recuperación	62.6%

Tabla No. 15 Características de la Unidad CNTS 010020 MX03



PROTOCOLO DEL BANCO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL PARA LA INFUSIÓN DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

El protocolo que se llevo a cabo para la infusión de CPH consiste en:

- ☞ Descongelación de la unidad a baño maría a 37°C por inmersión durante 2 min. (en bolsa de protección estéril) este paso se realiza 30 minutos antes de la infusión la unidad de sangre de cordón umbilical de 25 mL (figura No.12 y 13)

- ☞ Acondicionamiento en una solución amortiguadora de Rheomacrodex-albúmina (pisa-Grifols México)(figura No. 14) V/V para alcanzar un volumen final de 50 mL (figura No. 15),

- ☞ Infundir por catéter central en un periodo menor de 15 min. (figura No. 16)•



Figura No. 12 USC criopreservada



Figura No. 13 Descongelación de la Unidad

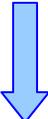


Figura No. 14 Dilución v/v.

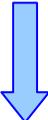


Figura No. 15 50 mL de la USC.



Figura No. 16 Infusión de la USC



CAPITULO V

RESULTADOS ¹⁵

El seguimiento del trasplante inició en el momento mismo que se realizó la infusión de células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical denominándole día 0.

El examen de laboratorio para seguir fue la biometría hemática, priorizando la cuenta de neutrófilos totales, hasta alcanzar 500 neutrófilos el día del injerto quimérico.

La prueba para comprobación del injerto fue la prueba de quimerismo la cual se realizó el día +20 mediante perfil DNA (salting out), observándose quimerismo mixto.

El seguimiento de la evolución de trasplante se realizó intrahospitalariamente hasta el días +30, día en que el paciente fue dado de alta hospitalaria continuando su seguimiento externo.

Biometría hemática

Serie roja

Para evaluar la serie roja se analizaron los resultados de hemoglobina ⁸.



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Tiempo Post-trasplante (días)	Hemoglobina (g/dL)
0	10.2
1	9.9
6	9.2
8	10.6
10	10.1
13.	10.2
14	10.3
15	10.6
16	10.5
17	9.8
20	9.7
21	9.2
27	11.3
30	12.3
36	13.0
42	12.9
47	14.5
51	13.6
59	12.2
76	12.0
84	12.7
90	11.6
105	12.0
118	12.8
132	13.4
146	12.9
161	12.6
182	12.9
206	11.9
239	8.6
240	11.1

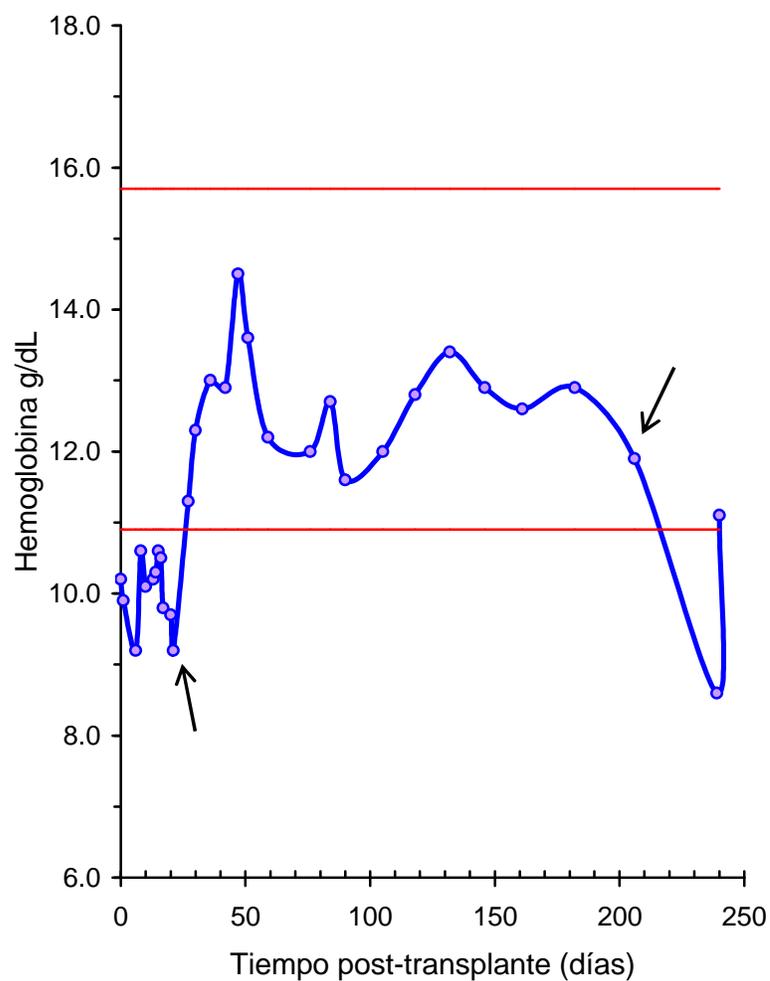


Tabla No. 16, Grafica No. 1. Respuesta post-trasplante (Hemoglobina) con respecto al tiempo (días)



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

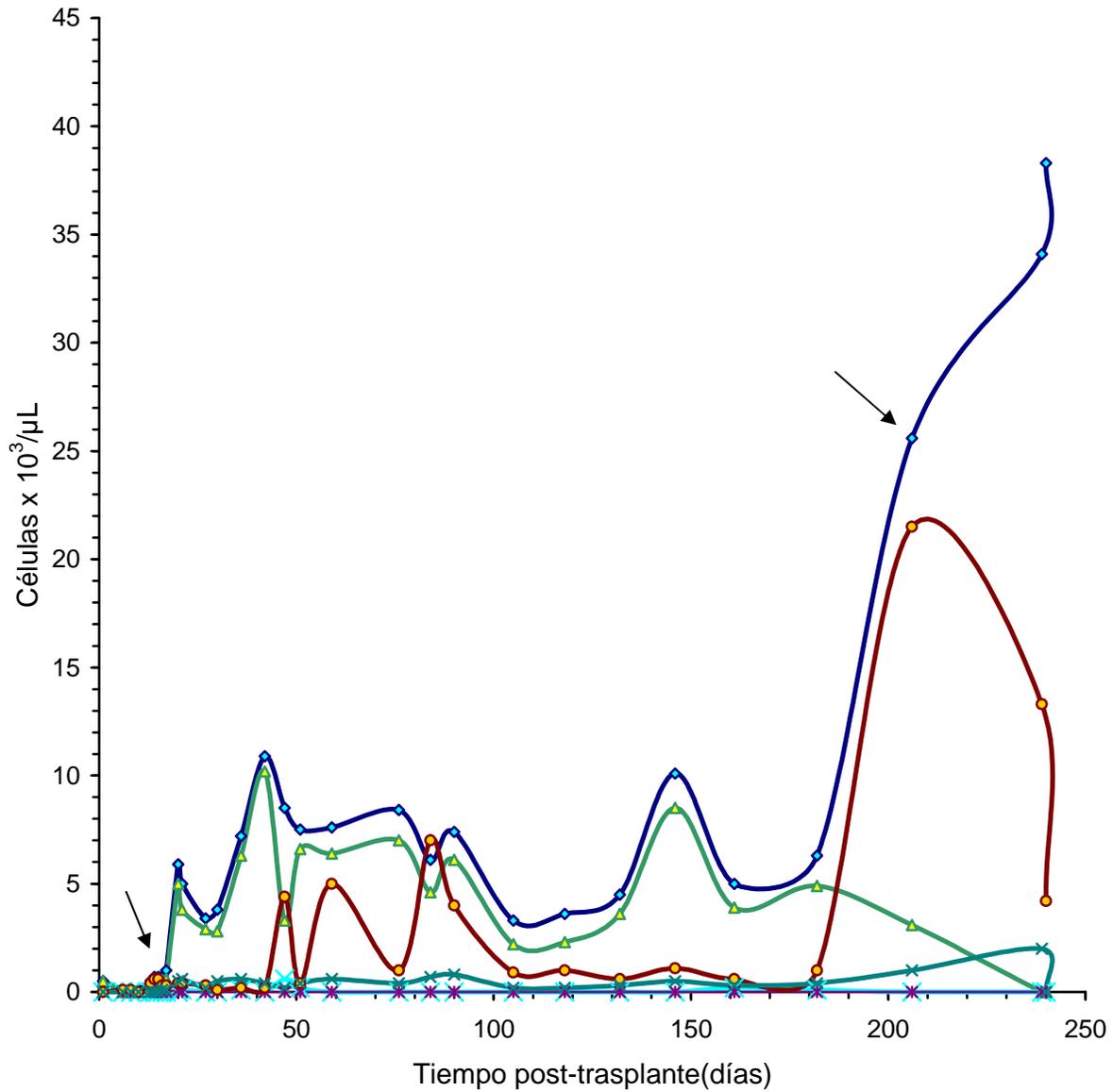
Serie blanca

Tiempo post-trasplante (días)	Leucocitos totales x 10 ³ /μL	Neutrófilos totales x 10 ³ /μL	Eosinófilos totales x 10 ³ /μL	Basófilos totales x 10 ³ /μL	Linfocitos totales x 10 ³ /μL	Monocitos totales x 10 ³ /μL
0	1.3	1.2	0.1	0.0	0.0	0.0
1	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
6	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
8	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
10	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
13	0.5	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0
14	0.7	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0
15	0.7	0.1	0.0	0.0	0.6	0.0
16	0.7	0.3	0.0	0.0	0.3	0.1
17	1.0	0.6	0.0	0.0	0.3	0.1
20	5.9	5.0	0.0	0.1	0.4	0.5
21	5.0	3.8	0.1	0.0	0.4	0.6
27	3.4	2.9	0.0	0.0	0.3	0.2
30	3.8	2.8	0.0	0.0	0.1	0.5
36	7.2	6.3	0.1	0.0	0.2	0.6
42	10.9	10.2	0.0	0.0	0.2	0.4
47	8.5	3.3	0.6	0.0	4.4	0.2
51	7.5	6.6	0.2	0.0	0.4	0.4
59	7.6	6.4	0.0	0.0	5.0	0.6
76	8.4	7.0	0.0	0.0	1.0	0.4
84	6.1	4.6	0.0	0.0	7.0	0.7
90	7.4	6.1	0.0	0.0	4.0	0.8
105	3.3	2.2	0.0	0.0	0.9	0.2
118	3.6	2.3	0.0	0.0	1.0	0.2
132	4.5	3.6	0.0	0.0	0.6	0.3
146	10.1	8.5	0.0	0.0	1.1	0.5
161	5.0	3.9	0.2	0.0	0.6	0.3
182	6.3	4.9	0.1	0.0	1.0	0.4
206	25.6	3.1	0.0	0.0	21.5	1.0
239	34.1	0.0	0.0	0.0	13.3	2.0
240	38.3	0.0	0.0	0.0	4.2	0.0

Tabla No. 17 Respuesta post-trasplante (serie blanca) con respecto al tiempo (días)



Representación general de la respuesta post-trasplante de la serie blanca con respecto al tiempo.



- Leucocitos totales
- Neutrófilos totales
- Eosinófilos totales
- Basófilos totales
- Linfocitos totales
- Monocitos totales

Grafica No. 2 Respuesta post-trasplante (serie blanca) con respecto al tiempo (días)



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Neutr3fidos Absolutos

Tiempo post-trasplante (d3as)	Neutr3fidos Absolutos x 10 ³ /μL
0	1.2
1	0.5
6	0.0
8	0.0
10	0.0
13	0.0
14	0.0
15	0.1
16	0.3
17	0.6
20	5.0
21	3.8
27	2.9
30	2.8
36	6.3
42	10.2
47	3.3
51	6.6
59	6.4
76	7.0
84	4.6
90	6.1
105	2.2
118	2.3
132	3.6
146	8.5
161	3.9
182	4.9
206	3.1
239	0.0
240	0.0

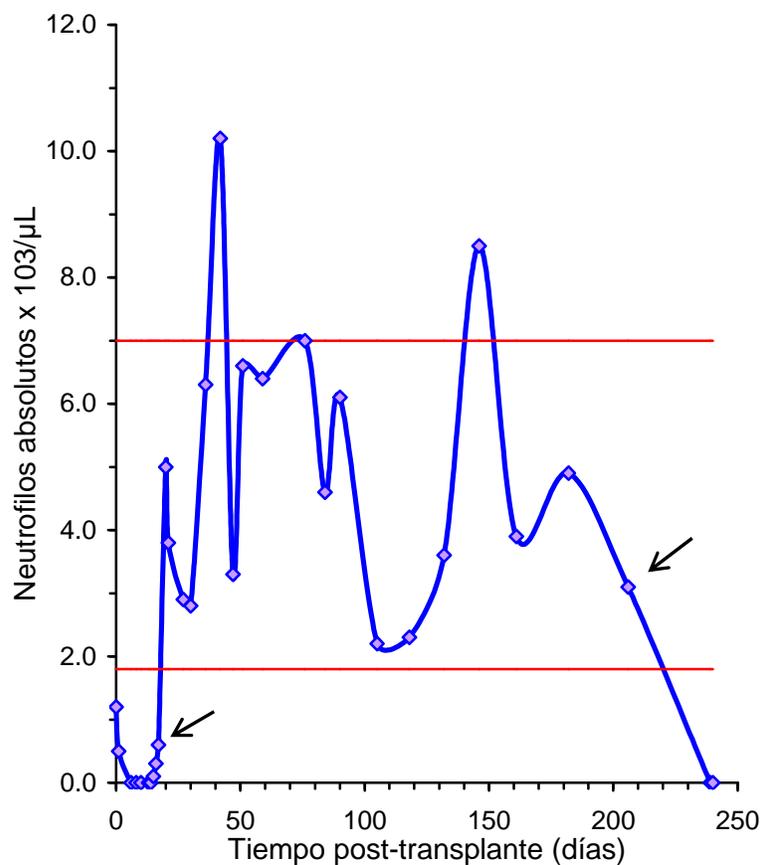


Tabla No. 18, Grafica No.3. Respuesta post-trasplante (Neutr3fidos Absolutos) con respecto al tiempo (d3as)



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Plaquetas

Tiempo post-trasplante (días)	Plaquetas x 10 ³ /μL
0	116
1	98
6	11
8	34
10	11
13	28
14	14
15	9
16	36
17	22
20	15
21	30
27	131
30	206
36	158
42	133
47	172
51	162
59	161
76	201
84	217
90	218
105	211
118	298
132	307
146	292
161	335
182	295
206	47
239	4
240	11

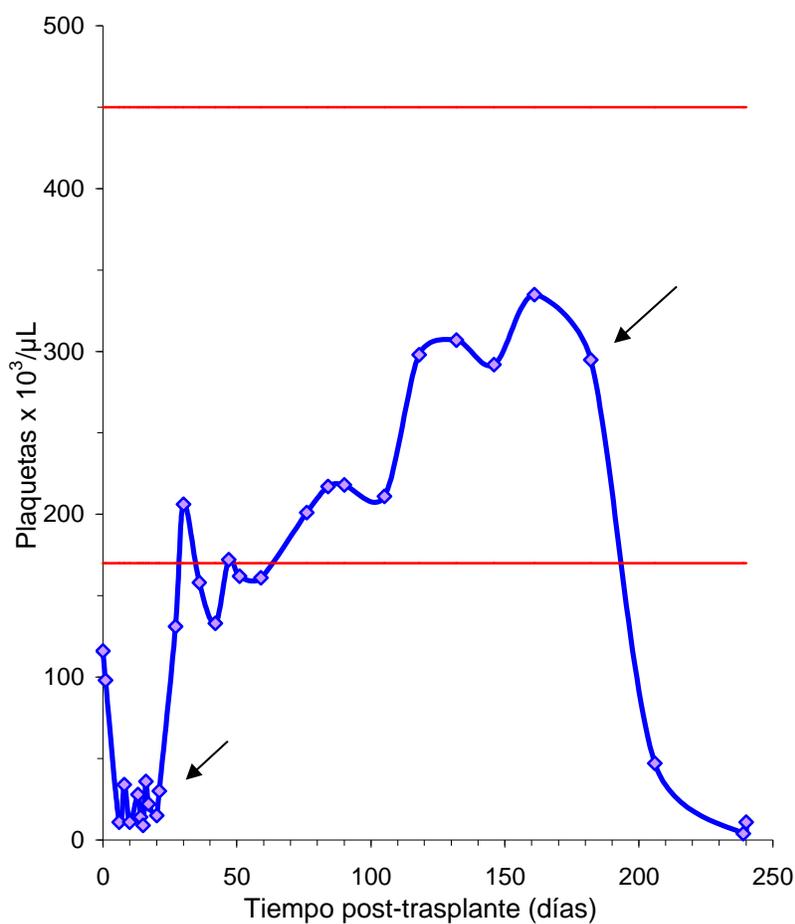


Tabla No. 19, Grafica No. 4 Respuesta post-trasplante (Plaquetas) con respecto al tiempo (días).



Resultados de la prueba de quimerismo hematológico mediante perfil de DNA.

La caracterización del quimerismo hematológico en el paciente se llevó a cabo mediante el perfil de DNA empleando seis marcadores polimórficos de tipo STR, los cuales se consideraron informativos para el seguimiento a los 21 días post-trasplante.

Los alelos encontrados en cada una de las muestras se presentan en la tabla No. 20

	HumCSF1PO (5q33,34)	Hum TPOX (2p25.1- pter)	Hum TH01 (11p15.5)	D16S539 (16q24- qter)	D7S820 (7q11,21- 22)	D13S317 (13q22- 31)
QM12	112-13	8-13	7, 10	9-11	8-10	12-14
QM13	8-12	8-12	6-9	10-12	12-12	9-14
QM14	8-12	8-12	7-10	10-12	8-10	12-14

Tabla No. 20 Resultados de la prueba de quimerismo.

Nota:

QM12 Células del paciente.

QM13 Células hematopoyéticas derivadas de sangre de cordón umbilical de donador no relacionado.

QM14 Células de la quimera resultante.



CAPITULO VI

ANALISIS DE RESULTADOS

El paciente varón de 10 años de edad con diagnóstico de Leucemia Aguda Linfoblástica fue candidato a trasplante porque cursaba con una tercera recaída de su enfermedad.

El personal médico del INP decide iniciar el protocolo para trasplante de medula ósea alogénico de donador 100% relacionado y compatible. Para fines del protocolo, se realizó tipificación HLA a sus dos hermanos, encontrando un donador 100% compatible (2 haplotipos iguales)¹⁵, se trataba de su hermanita de 3 años de edad.

El INP presentó a la familia la opción de utilizar las CPH de su hermanita de tres años, sin embargo los padres de estos no autorizaron el trasplante de medula ósea de donador relacionado ya que cuando los médicos les explicaron los riesgos a los que se iba a exponer a la niña al realizar recolección de CPH de médula ósea decidieron no hacerlo, para no arriesgar a la pequeña que hasta ese momento gozaba de excelente estado de salud.

El personal médico del INP se dio a la tarea de buscar otra alternativa, la cual, fue solicitar al banco de sangre de cordón umbilical la búsqueda de una unidad compatible con el paciente, el resultado fue que a pesar de contar con solo 50 USCU se encontró una unidad compatible 3 de 6, se envió



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS _____

la información al INP y el médico a cargo tomó la decisión de utilizar dicha unidad aunque la compatibilidad no era la suficiente, esto debido a la urgencia del trasplante.

El paciente fue valorado en el hospital por los servicios de neumología pediátrica, gastronomía, infectología, pediátrica, serología, radiología, encontrándolo en buen estado para recibir el trasplante.

El paciente fue puesto en un cuarto aislado que contaba con todas las medidas de esterilidad necesarias ya que se le había realizado una irradiación corporal total como acondicionamiento para recibir las células progenitoras de cordón umbilical.

Como podemos observar en los resultados la serie roja, los primeros días el paciente mantuvo una hemoglobina constante esto gracias a que a partir del día +3 recibió varios paquetes globulares ya que su médula todavía era incapaz de producir sus propias células, sin embargo a partir del día +21 se logra observar una mejoría considerable de su hemoglobina.

Donde realmente se aprecia el éxito del trasplante es en la serie blanca ya que entre los días del 17 al 21 se puede observar el aumento de los neutrófilos lo cual nos indica que la propia de la médula ósea del paciente empezaba a producir células nuevas.

Por otro lado el paciente también recibió una unidad de plaquetas por aféresis el día +3, motivo por el cual sus plaquetas nunca llegaron a 0, y como se puede observar al igual que en la serie blanca se observa se aumento considerable a partir del día +21.



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS _____

En este momento (día +21) se realiza la prueba de quimerismo, y como se puede observar en los resultados tres de los seis marcadores analizados mostraron genotipos diferentes entre QM12 y QM14 es decir, entre la circulación del paciente antes de recibir la infusión de la células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical de donador no relacionado y la circulación del paciente después de recibirlas. Además la presencia de tres marcadores genéticos iguales entre QM13 y QM14, nos indica que los leucocitos circulantes post-trasplante provienen de ambas líneas celulares hematopoyéticas, lo que nos da como resultado un quimerismo mixto ¹⁵.

El paciente fue dado de alta hospitalaria el día +30, regresando a su comunidad y reintegrándose a sus actividades normales, los médicos del INP reportaron que el paciente se encontraba en excelente estado de salud, el paso a seguir era realizar un seguimiento externo el cual se llevo acabo aproximadamente cada 14 días, los médicos del INP informaron que para el día +118 post-trasplante no se había presentado ninguna complicación con respecto al trasplante y que el paciente se encontraba gozando de buena salud y libre de enfermedad.

Sin embargo como ya se había mencionado anteriormente, las leucemias que presentan inmunofenotipo T son las de peor pronóstico, además cuando el quimerismo es mixto significa que se siguen produciendo células originales del paciente, muchas de las cuales son sanas pero existe la posibilidad que se produzcan también células leucémicas, este fue el caso de éste paciente ya que para el día +206 post-trasplante se encontró un 3% de blastos, un aumento considerable de leucocitos totales y una disminución en



RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS _____

su hemoglobina y sus plaquetas. A partir de este momento al paciente se le dio un tratamiento paliativo.

El día +237 post-trasplante se le realizó la ultima quimioterapia, sin embargo para el día +240 post-trasplante el paciente presentaba un 95% de blastos, y una disminución dramática de sus plaquetas, en la serie roja se observó un pequeño aumento en la hemoglobina pero este se debió a una transfusión que recibió el día +239. El estado del paciente ya era en extremo delicado.

El paciente fue reintegrado a hospitalización por ultima vez el 13 de noviembre del 2004, día en el que se cumplirían +242 días post-trasplante, ingresa presentando otalgia derecha, polipnea y fiebre, la membrana timpánica derecha se encontraba abombada de mala evolución. Dado que el sistema hematológico y por lo tanto inmunológico del paciente se encontraba sumamente dañado, a raíz de esta infección se desato una sepsis generalizada. Posteriormente se da un incremento de la polipnea y dificultad respiratoria la cual es manejada con O₂, al inicio se presentan TA y FC conservadas, las cuales disminuyen gradualmente así como la polipnea, hasta que el paciente presenta paro cardiorrespiratorio, el cual recibe maniobras, sin embargo el paciente fallece a las 14:05 horas del día 14 de noviembre del 2004.



CAPITULO VII

CONCLUSIONES

- ☞ El caso clínico que presenté en esta tesis, desde el principio era muy difícil, ya que se trataba de un paciente multitratado, con una enfermedad en etapas muy avanzadas y sobretodo, con una enfermedad de mal pronostico, sin embargo aún así, los médicos con ayuda del Banco de Sangre de Cordón Umbilical no dejaron de luchar ni un solo momento por su vida.
- ☞ La Unidad de Sangre de Cordón Umbilical produjo injerto el día +21 post-trasplante, el quimerismo que se presentó fue un quimerismo mixto, lo que confirmó el éxito del trasplante, sin embargo también nos indicaba que el paciente seguía produciendo células propias y desafortunadamente en algún momento células dañadas.
- ☞ Finalmente se presento una nueva recaída de la enfermedad, que aunado a una sepsis generalizada secundaria a una infección ótica, deterioró su sistema causando su deceso.



APORTACIONES

El primer trasplante realizado en México con donador y receptor mexicanos abrió la posibilidad para México de una nueva opción terapéutica. A partir de este caso se han realizado más de 140 trasplantes en nuestro país.

Es importante recalcar que la utilización de USCU de alta calidad hematopoyética, es fundamental para el buen éxito de un injerto. Hoy en México se puede afirmar que las unidades de CPH producidas por el BSCU son células aptas para cualquier utilización médica, esto gracias a que toda la metodología automatizada que se utiliza se fundamenta en los estándares internacionales de NETCORD-FACHT.

México se posesionó en primer lugar mundial durante el 2007 y el 2008 según el reporte oficial de WMDA (World Marrow Donor Association).



Abreviaturas utilizadas

ADN	Ácido desoxiribonucleico
AICH	Actividad de injerto contra leucemia
BH	Biometría hemática
BSCU	Banco de sangre de cordón umbilical
CCG	Antiguo grupo de cáncer infantil
CD34	Marcador de células progenitoras hematopoyéticas
CNTS	Centro nacional de la transfusión sanguínea
CPD	Anticoagulante Citrato fosfato dextrosa
CPH	Células progenitoras hematopoyéticas
DMSO	Dimetil sulfoxido
EICH	Enfermedad injerto contra huésped
EMR	Enfermedad mínima residual
FAB	Clasificación franco-americana-británica
FC	Frecuencia cardiaca
G CSF	Factor estimulantes de colonias granulocíticas.
Hb	Hemoglobina
HES	Hidroxi-etil almidón
HIV	Virus de inmunodeficiencia humana
HLA	Antígeno leucocitario humano
INP	Instituto Nacional de Pediatría
LAL	Leucemia aguda linfoblástica
LAM	Leucemia aguda mieloblástica
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LMC	Leucemia mielocítica crónica
MIC	Clasificación morfológica, inmunológica y citogenética
MO	Médula ósea



ANEXOS

NETCORD	Organización internacional formada por BSCU de larga experiencia de EUA, Europa, Japón, y Australia.
PNO	Procedimientos normalizados de operación
POG	Grupo de oncología pediátrica
QC	Quimerismo completo
QM	Quimerismo mixto
SCU	Sangre de cordón umbilical
SNC	Sistema nervioso central
TA	Tensión arterial
USCU	Unidad de sangre de cordón umbilical
UTMO	Unidad de trasplante de médula ósea



BIBLIOGRAFIA

1. AMAT LI. **"La sangre de cordón umbilical una nueva fuente de progenitores hematopoyéticos para trasplante. Análisis de nuestra experiencia en la recolección y procesamiento"**; prog obst Gin 1996; 39 Págs. 571 - 579
2. BENNETT JM, CATOVSKY D, DANIEL MT, et al.: **The morphological classification of acute lymphoblastic leukaemia: concordance among observers and clinical correlations**. Br J Haematol 47 (4): 553-61, 1981.
3. BERKOW R; **"El manual Merck de diagnóstico y terapéutica"**; Ed. Doyma; 8º Edición ; España; 1989; Pág. 1923 - 1927
4. BOGDANIC V, NEMET D, KASTELAN A et al. **Umbilical cord blood transplantation in a patient with philadelphia-chromosome positive chronic myeloid leucemia**. Transplantation 1993; 56: 477-79
5. BONNET; **"Haematopoietic steam cells"**; J Panthol 2002; 197; 430-440
6. CALDERON E; **"Los bancos de sangre de cordón umbilical, la normativa internacional y su situación actual en la Republica Mexicana"** Gac Med Mex Vol 139 suplemento No. 3, 2003 Págs. s101 - s103



BIBLIOGRAFIA

- 7. Eleva tabaco y alcohol el riesgo de leucemia en bebés,** El universal, martes 18 de marzo del 2008
- 8. G. J. RUIZ ARGÜELLES, *Fundamentos de Hematología*** 1ª Edición 1995. Editorial Médica Panamericana SA de CV. México D. F. Pág. 25-35
- 9. G. J. RUIZ Argüelles, *Fundamentos de Hematología*** 1ª Edición 1995. Editorial Médica Panamericana SA de CV. México D. F. Pág. 137 – 141
- 10. GARCÍA J, QUEROL S; "*Los bancos de sangre de cordón umbilical: una nueva contribución al tratamiento de las enfermedades hematológicas*";** Acta científica y tecnológica; Vol. 3; 2001; Págs. 10 – 13
- 11. HANN I, VORA A, HARRISON G, et al.: *Determinants of outcome after intensified therapy of childhood lymphoblastic leukaemia: results from Medical Research Council United Kingdom acute lymphoblastic leukaemia XI protocol.*** Br J Haematol 113 (1): 103-14, 2001.
- 12. HARRIS MB, SHUSTER JJ, CARROLL A, et al.: *Trisomy of leukemic cell chromosomes 4 and 10 identifies children with B-progenitor cell acute lymphoblastic leukemia with a very low risk of treatment failure: a Pediatric Oncology Group study.*** Blood 79 (12): 3316-24, 1992.



BIBLIOGRAFIA

- 13.** HEEREMA NA, SATHER HN, SENSEL MG, et al.: ***Prognostic impact of trisomies of chromosomes 10, 17, and 5 among children with acute lymphoblastic leukemia and high hyperdiploidy (> 50 chromosomes)***. J Clin Oncol 18 (9): 1876-87, 2000.
- 14.** INDRIKOVS A.; ***"Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical"***; Gac Med Mex Vol 138 suplemento No. 1, 2002 Págs. S130 – s132
- 15.** Información obtenida del archivo clínico del paciente, proporcionada por el INP.
- 16.** Instituto Nacional de Pediatría, Agenda estadística, 2006. Pag. 46
- 17.** International Standards for Cord blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and release. NETCORTD-FAHCT 3^{ra} Edición 2002.
- 18.** KERNAN NA, SCROEDER ML, CIAVARELLA D et al. ***Umbilical cord blood infusion in a patient for correction of Wiskott-Aldrich síndrome***. Blood Cell 1994; 20:242-4
- 19.** KOHLI-KUMAR M, SHAHIDI NT, BROXMEYER HE et al. ***Haematopoietic stem/progenitor cell transplant in Fanconi anaemia using HLA-matched sibling umbilical cord blood cells***. Brit J Haematol 1993; 85: 419-22



BIBLIOGRAFIA

20. KUTZBERG J, GRAHAM M, CASEY J et al. ***The use of umbilical cord blood in a mismatched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation.*** Blood Cells 1994; 20: 275-84.
21. KUTZBERG J, LAUGHLIN M, GRAHAM ML et al. ***Placental blood as a source of hematopoietic stem cell for transplantation in unrelated recipients.*** N Engl J Med 1996; 335: 157-166.
22. ***Manual de trasplante hemopoyetico;*** 1998 Editorial Antares Collbató España
23. ***Salvan a un niño con el primer injerto de células madre;*** ciencias crónica; 2004
24. MARTINEZ C.; ***"El banco de células madre hematopoyéticas de cordón umbilical para trasplante";*** Gac Med Mex Vol 139 suplemento No. 3, 2003 Págs. S93-s98
25. MEJÍA AJM, ORTEGA ÁMC, FAJARDO GA, ***Epidemiología de las leucemias agudas en niños.*** Parte 1, Rev Med IMSS 2005; 43 (4): 323-333
26. MIÑANA M; CARBONELL F; ***"Sangre de cordón umbilical como fuente de células madre hematopoyéticas para trasplante";*** Clonación y trasplantes; Págs. 74 - 89
27. PUI CH, EVANS WE: ***Acute lymphoblastic leukemia.*** N Engl J Med 339 (9): 605-15, 1998.



BIBLIOGRAFIA

28. PUI CH: ***Childhood leukemias***. N Engl J Med 332(24): 1618-30, 1995.
29. QUERL S., CAPMANY G. ***"Expansion of cord blood progenitor cells"***. Bone Marrow Transplant. 1998 Jun; 21 Suppl 3:S77-80.
30. QUEROL S., GABARRO M., AMAT L. ***"The placental Blood program of the Barcelona Cord Blood Bank"***. Bone Marrow Transplant. 1998 Jul; 22 Suppl 1:S3-5.
31. QUEROLS S; ***"El trasplante de cordón: desde el laboratorio a la clínica"***; Gac Med Mex Vol 139 suplemento No. 3, 2003 Págs. S107 – s109
32. REAMAN GH, SPOSTO R, SENSEL MG, et al.: ***Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group***. J Clin Oncol 17 (2): 445-55, 1999.
33. ***Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*** v.19 n.2-3 Ciudad de la Habana Mayo-dic. 2003
34. RIVERA LUNA R, Cancer en niños ***"Las seis neoplasias malignas más frecuentes en pediatría"***. 1ª Edición 1996. Intersistemas, S. A. de C. V. México D.F. Pate C Libro 1 pág. 13 – 24.
35. SEPAX ***"Sistema de procesamiento celular manual de operación"***



BIBLIOGRAFIA

36. TORRADADELLA M; **"Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas"**; Gac Méd Méx Vol.138 Suplemento No. 1, 2002 Págs.128 – 129.
37. TORRICO-LEÓN C. **"El proceso del Banco de Sangre de Cordón Umbilical"**. S96 Gac Méd Méx Vol. 139, suplemento No. 3 2003.
38. UCKUN FM, SENSEL MG, SUN L, et al.: **Biology and treatment of childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia**. Blood 91 (3): 735-46, 1998.
39. VANLEMMENS P, PLOUVIER E, AMSALLEM D et al. **Transplantation of umbilical cord blood in neuroblastoma**. Nouv Rev Fr Hemato 1992; 34: 243-46.
40. VILMER E, STERKERS G, RAHIMY C et al. **HLA-mismatched cord blood transplantation in patient with advanced leukemia**. Transplantation 1992; 53: 1155-57.
41. VOWELS MR, LAM-PO-TANG R, BERDOUKAS V et al. Brief report: **Correction of X-linked lymphoproliferative disease by transplantation of cord.blood ítem cells**. New Engl J Med 1993; 329: 1623-25.

PÁGINAS DE INTERNET CONSULTADAS.

42. <http://medlineplus.gov>
43. <http://www.leucemiarociobellido.org/leucemia-aguda.htm>



BIBLIOGRAFIA

- 44.** http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_14/seccion_14_157.html
- 45.** <http://www.salud.gob.mx/unidades/cnts.htm>
- 46.** <http://www.cancer.gov/espanol/pdq/tratamiento/leucemia-linfoblastica-infantil/patient/page1>
- 47.** <http://www.opolanco.es/Apat/boletin11/leucemias.htm#LLC>
- 48.** <http://www.ecojoven.com/uno/05/celulasm.htm/>
- 49.** www.NETCORD_org - Virtual Office.htm