



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

TESIS

**CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E
INMUNOFENOTÍPICAS DEL NICH
HEMATOPOYÉTICO Y RETICULAR DE LA
MÉDULA ÓSEA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
POSTRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA.**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:
DRA. CITLALLI EDITH SÁNCHEZ GARCÍA**

**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. María Argelia Escobar Sánchez**

**ASESOR METODOLÓGICO:
Dra. María del Pilar Eguía Aguilar**

**ASESOR CLÍNICO:
Dr. José Félix Gaytán Morales**



Ciudad de México, Febrero de 2019



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.

HOJA DE FIRMAS



DRA. MARIA ARGELIA ESCOBAR SÁNCHEZ

JEFA Y MEDICO ADSCRITO DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y
EXPERIMENTAL DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GOMEZ

DEDICATORIA

Al inmenso amor y apoyo incondicional de mi madre
A los consejos y fortaleza de mi padre
A mi amigo incondicional, mi gran amor y sobre todo compañero en esta gran
travesía Jacobo
Abuelito Gonzalo, hasta el cielo

INDICE

I. RESUMEN	5
II. INTRODUCCIÓN	6
III. MARCO TEORICO	8
IV. ANTECEDENTES	28
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	31
VII. JUSTIFICACIÓN	32
VIII. OBJETIVOS	33
IX. MATERIAL Y MÉTODO	34
X. CONSIDERACIONES ETICAS	37
XI. PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO	37
XII. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES	38
XIII. RESULTADOS	45
XIV. DISCUSIÓN	47
XV. CONCLUSIONES	50
XVI. BIBLIOGRAFÍA	51
XVII. ANEXOS	53

I. RESUMEN

Objetivo: Describir las características histológicas e inmunofenotípicas del nicho hematopoyético y reticular de la médula ósea de pacientes pediátricos postrasplante de médula ósea del Hospital Infantil de México Federico Gómez en el período Enero 2009 a Enero 2017. **Material y Método:** Estudio tipo descriptivo de serie de casos, observacional, retrospectivo, de corte transversal, población de estudio fueron todos los pacientes pediátricos con reportes de biopsias de médula ósea con enfermedad hemato oncológica y postrasplantados de médula ósea durante el período de enero 2009 –enero 2017. Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se seleccionaron 85 casos de las biopsias quirúrgicas de médula ósea estudiadas durante el período de estudio, 11 cumplieron criterios de inclusión. **Resultados:** De las biopsias de médula ósea realizadas entre enero 2009 y enero 2017, 11 con criterios de inclusión, el grupo etáreo que prevaleció fue de 12-18 años con el 55%, la mayoría del sexo masculino en el 72%, el 82% con celularidad de entre 20-40%, la relación mieloide-eritroide entre 3:1 y 2:1 respectivamente con 72% y 27% respectivamente. El 54% de las trabéculas oseas se observaron normales, de estas todas con osteoblastos y el 45% con trabéculas óseas delgadas, de estas el 27% con osteoblastos ausentes. En ninguno de los casos se encontró fibrosis y el 36.36% presentaron hemosiderosis Grado I de la OMS. Las reacciones de inmunohistoquímica que se realizaron para caracterizar a los nichos hematopoyéticos y reticular de la médula ósea fueron el NGFR o CD271, CD10 y CD34. En cuanto al NGFR con expresión citoplasmática, en su mayoría fue focal 72.72% y el 27.27% (3) difuso, con una intensidad fuerte. El anticuerpo CD10 fue difuso en el 100% . La expresión se distribuyó en 54.54% de forma paratrabecular, la intensidad de expresión fue intensa en 72.72%. El anticuerpo CD34, de patrón de expresión en membrana fue focal en el 54.54% , la localización de expresión se distribuyó en 45.45% paratrabecular con intensidad de expresión moderada en 54.54%. **Conclusiones:** el principal rango de edad estudiado fue de 12 a 18 años, la mayoría sexo masculino, edad media de 9 años, edad mínima de 3 años y máxima de 17 años. La celularidad y edad, prevaleció la de 30-40% con 45.45%, en ninguno de los casos se encontró fibrosis. El 36.36% con hemosiderosis grado I de la OMS.

I. INTRODUCCIÓN

La médula ósea es el principal sitio de hematopoyesis y formación de hueso en la mayoría de los vertebrados. Por lo tanto, además de contener células hematopoyéticas, la médula ósea contiene células que contribuyen a la homeostasis ósea, incluidas las células madre mesenquimales (también llamadas células madre esqueléticas), osteoprogenitores, osteoblastos, osteocitos y condrocitos.¹

Aunque las HSC tienen que dividirse para autorrenovarse, su división celular solo se puede completar con seguridad dentro de un nicho correcto; de lo contrario, su capacidad de injerto y supervivencia se ven enormemente desafiadas.²

Los tres componentes celulares se encuentran distribuidos en la médula ósea en tres zonas distinguibles por su morfología; el parénquima, constituido por todos los elementos hematopoyéticos y cantidades variables de grasa o adipocitos; la zona endosteal y trabecular, integrada por osteocitos y osteoblastos; y la vasculatura, que incluye arteriolas, capilares y sinusoides.⁴

El CD34 constituye hasta el momento el marcador más útil y práctico para cuantificar la célula madre hematopoyética según lo confirman sus perfiles genéticos, las Cd34 positivas expresan sobre todo genes responsables de su movilización y alojamiento en la médula ósea, tales como receptores de quimiocinas e integrinas. Esta evidencia molecular explica la mayor capacidad de injerto de estas células.

El CD271 o Factor de crecimiento neuronal de baja afinidad (NGFR) es un marcador que define un subgrupo de células estromales mesenquimales multipotenciales y puede ser usado para aislar y enriquecer células derivadas de aspirados de médula ósea.

El CD10 es un anticuerpo conocido como antígeno común de la leucemia Linfoblástica aguda, usado como marcador Linfoblástos B, linfoblástos T, granulocitos, y células epiteliales (glomerular, células de túbulos proximales, células

miopelteliales, canalículo biliar, neutrófilos, epitelio intestino delgado fetal y fibroblastos normales) 24

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es un procedimiento en el que las células progenitoras hematopoyéticas son infundidas para restaurar la función de la médula ósea (MO), afectada parcial o completamente por enfermedades propias de la MO o como consecuencia de una alteración secundaria.

VI. MARCO TEÓRICO

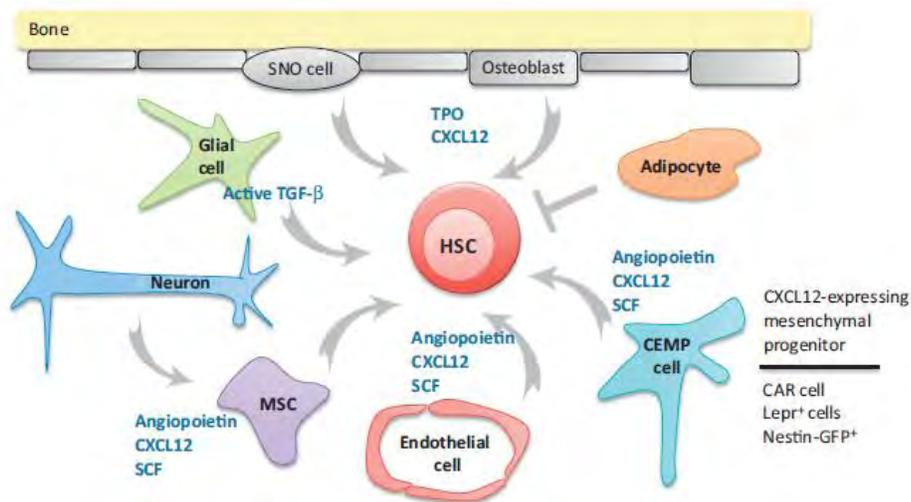
Siguiendo a Darwin, se hizo mucho hincapié en definir las relaciones evolutivas jerárquicas entre los organismos. Las similitudes morfológicas se utilizaron para construir árboles ancestrales que conectaban organismos multicelulares complejos a una “célula madre” mononuclear original. Las relaciones de linaje se formularon y Ernst Haeckel propuso que la organización celular en un organismo en desarrollo era la recapitulación de eventos en la evolución de la especie, con células derivadas de un equivalente de “stem cell”. Treinta años más tarde, Artur Pappenheim propuso una formulación menos importante y mas precisa basada en la capacidad mejorada para visualizar la morfología celular: que las células madre de la sangre estaban relacionadas entre sí, con tipos de células maduras descendientes de un tipo de célula única en una “vista unificada de hematopoyesis”. Al hacerlo, articuló la hipótesis de las células madre del tejido. Este concepto tardó aproximadamente medio siglo en definirse experimentalmente a través del trabajo inspirado de Till y McCulloch, quienes demostraron que las células individuales podían producir descendientes de varios linajes al tiempo que preservaban la multipotencia de la célula madre. Dieron sustancia a la idea de una célula madre y nos dieron métodos para definir las propiedades cardinales de esas células, autorrenovación y diferenciación.

Till y McCulloch basaron gran parte de su trabajo en un ensayo in vivo de formación de colonias de bazo (CFU-S) que ahora se sabe que mide principalmente progenitores multipotentes en lugar de células madre hematopoyéticas autorrenovables a largo plazo (HSC). La naturaleza imprecisa de ese ensayo contribuyo a la formulación de Ray Schofield de la hipótesis de nicho en 1978. Reconociendo que las supuestas células madre CFU-S eran menos robustas que las células de la médula ósea al reconstruir la hematopoyesis en animales irradiados, propuso que un nicho en la médula ósea especializado conserva la capacidad reconstituyente de las células madre. Sus colegas de la universidad de Manchester intentaron simultáneamente definir que hacia que la médula ósea fuera un contexto propio para las CMH y Michael Dexter demostró que los cultivos de

células estromales en gran medida mesenquimatosas podían mantener las células hematopoyéticas primitivas ex vivo. Además, Brian Lord siguió progresivamente los espacios medulares y mostró que las células primitivas tendían a localizarse hacia los márgenes endósticos, lo que lleva a la hipótesis de que el hueso podría regular la hematopoyesis.

La médula ósea es el principal sitio de hematopoyesis y formación de hueso en la mayoría de los vertebrados. Por lo tanto, además de contener células hematopoyéticas, la médula ósea contiene células que contribuyen a la homeostasis ósea, incluidas las células madre mesenquimales (también llamadas células madre esqueléticas), osteoprogenitores, osteoblastos, osteocitos y condrocitos. ⁴

Para agregar complejidad adicional, otras poblaciones de células estromales que residen en la médula ósea pueden regular la hematopoyesis, incluidas las células neuronales, las células gliales y los adipocitos. ¹



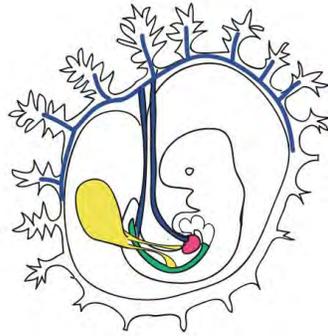
La médula ósea es un órgano complejo que contiene muchos tipos diferentes de células hematopoyéticas y no hematopoyéticas. La médula ósea está rodeada por una capa de hueso vascularizado e innervado. Las proyecciones diminutas de hueso (trabéculas) se encuentran a lo largo de la metafisis de manera que muchas células en esta región están cerca de la superficie del hueso. La interfaz entre el hueso y la médula ósea se conoce como endosteo, que está cubierto por células de

revestimiento óseo que incluyen osteoblastos formadores de hueso y osteoclastos que resorben los huesos. Las arterias transportan oxígeno, nutrientes y factores de crecimiento a la médula ósea, antes de alimentar a los sinusoides, que se unen como un seno central para formar la circulación venosa. Los sinusoides son venulas especializadas que forman una red reticular de vasos fenestrados que permiten que las células entren y salgan de la circulación.

La producción de células sanguíneas de por vida depende de las células madre hematopoyéticas (HSC) y de su capacidad para autorrenovarse y diferenciarse en todos los linajes sanguíneos. El conjunto original de HSC se forma durante la embriogénesis en un complejo proceso de desarrollo que involucra varios sitios anatómicos (el saco vitelino, la región aorta-gonadmesonephros, la placenta y el hígado fetal), después de lo cual las HSCs colonizan la médula ósea al nacer. Durante la vida postnatal, se establece un estado estable en el que el tamaño del conjunto de HSC se mantiene mediante la regulación de la autorrenovación y diferenciación de HSC. Esto es posible porque la médula ósea contiene nichos especializados en los que la multipotencia de las HSCs se conserva a través de las divisiones celulares, mientras que su progenie se dirige hacia la diferenciación de linaje.

Aunque las HSC tienen que dividirse para autorenovarse, su división celular solo se puede completar con seguridad dentro de un nicho correcto; de lo contrario, su capacidad de injerto y supervivencia se ven enormemente desafiadas.

El desafío de la hematopoyesis fetal es generar células sanguíneas diferenciadas que son inmediatamente necesarias para el crecimiento y desarrollo embrionario y para establecer concomitantemente una reserva de HSC indiferenciadas, aunque la médula ósea y sus nichos especializados todavía no se hayan desarrollado. En consecuencia, múltiples sitios anatómicos participan en la hematopoyesis fetal.



El cambio de la hematopoyesis de un lugar a otro se requiere a medida que la anatomía del embrión cambia durante la organogénesis. Además, la compartimentalización de la hematopoyesis fetal en sitios múltiples podría permitir diferentes señales inductivas de los microambientes para apoyar el desarrollo de HSCs indiferenciadas, mientras que concomitantemente genera células sanguíneas maduras en otra ubicación. El uso de múltiples sitios hematopoyéticos fetales es común en muchas especies, como moscas, anfibios, peces, aves, roedores y humanos.

Las HSCs fetales son en gran medida cíclicas y tienen que someterse a divisiones celulares simétricas en las que ambas células hijas retienen la capacidad de autorrenovación y la multipotencia, lo que resulta en una expansión neta de las HSC. Dado que las HSC fetales son marcadamente diferentes que las HSC adultas con respecto a su estado de ciclo celular y capacidad proliferativa, es concebible que diferentes mecanismos controlen el injerto y la autorrenovación de las HSC durante la vida fetal y adulta. ²

La hematopoyesis es el proceso por el cual se producen todas las células sanguíneas maduras. Debe equilibrar las enormes necesidades de producción (más de 500 mil millones de células sanguíneas se producen cada día) con la necesidad de regular con precisión el número de cada tipo de célula sanguínea en la circulación. En los vertebrados, la gran mayoría de la hematopoyesis se produce en la médula ósea y se deriva de un número limitado de células madre hematopoyéticas (CMH) que son multipotentes y capaces de autorrenovación extensa. En los mamíferos, se estima que hay aproximadamente 10,000 HSCs, de

las cuales, en humanos, aproximadamente 1,000 contribuyen a la hematopoyesis en un momento dado. ¹

Las propiedades clave de las HSC son la multipotencia, la capacidad de autorrenovación y la inactividad. El microambiente de la médula ósea parece estar especialmente adaptado para soportar estas y otras propiedades de HSC. Como propuso por primera vez Schofield en 1978, el concepto de un "nicho de células madre" en la médula ósea ha ganado una gran popularidad. ¹

Diferentes tipos de células y su papel en los nichos de HSC normales: ³

Osteoprogenitores / osteoblastos	Evidencia inicial pero controvertida que implica osteoblastos en la regulación de la HSC (probablemente indirecta); posible papel en la formación del nicho de HSC; apoyo de los progenitores tempranos en la medula osea.
Osteocitos	Regulación de la función de los osteoblastos a través de procesos celulares y uniones gap.
Neuronas simpáticas	Regula la salida circadiana de HSC y la expresión de genes de mantenimiento HSC en MSC.
Células de Schwann no mielinizantes	Mantenimiento de quiescencia de HSC.
Las células endoteliales	Mantenimiento / retención de HSC
Endotelio arteriolar y pericitos	Papel propuesto en el mantenimiento de la quiescencia de HSC, recientemente cuestionado.
Células CAR	Células estromales heterogéneas con alta expresión de Cxcl 12; la eliminación de Cxcl 12 conduce al agotamiento de HSC.
Lepr+ células del estroma perivascular	Mantenimiento / retención de HSC;
Adipocitos	Reguladores negativos de la hematopoyesis homeostática y postrasplante.
Monocitos / macrófagos	Promover la retención de HSC y progenitores en la médula ósea; requerido para el mantenimiento de HSC y la eritropoyesis en respuesta al estrés.

Neutrófilos	La eliminación de neutrófilos envejecidos atrae a los macrófagos; disminuye las células CAR y los niveles de Cxcl 12.
Osteoclastos	Pólemico; posible función en la movilización de HSPC
Megacariocitos	Mantener la quiescencia de HSC; promover la remodelación del nicho y la expansión de los osteoblastos después de la irradiación.
Células Treg	

Definición de términos

Célula madre o “stem cell”

Es aquella célula que posee, bajo ciertas condiciones, la capacidad de reproducirse a sí misma por largos periodos y que puede dar origen, a células especializadas que forman los tejidos y órganos del cuerpo.

Célula madre pluripotente

Es aquella célula que tiene la capacidad de dar origen a células de las tres capas germinales (mesodermo, endodermo y ectodermo) de las cuales provienen todos los tipos celulares del organismo. Las únicas fuentes conocidas de células pluripotenciales humanas, son aquellas que son separadas y cultivadas de embriones humanos en la primera semana de vida, o del tejido fetal destinado a ser parte de las gónadas.

Células madre embrionaria

Es aquella célula que deriva de la masa celular interna, que es parte del embrión de 4 a 5 días, llamado blastocisto.

Progenitor o célula precursora

Es aquella que se encuentra en los tejidos fetales o adultos, está parcialmente especializada, se divide y da origen a células diferenciadas, pero ya no es capaz de autoreplicarse, pues se dice que está comprometida con una línea de diferenciación.

Las células progenitoras o precursoras pueden reemplazar a las células dañadas o muertas, manteniendo la integridad y función de un tejido, así mismo, pueden dar origen a tipos celulares relacionados, como por ejemplo a células T, B y NK, pero en su estado normal no generan una amplia variedad de tipos celulares.

Célula madre

Este nombre resulta inapropiado, porque si bien, el material recolectado en cualquiera de sus diferentes etapas y fuentes, puede purificarse, hasta dejar solamente la fracción de células CD34+, dicho material será una mezcla de células madre hematopoyéticas, progenitores celulares y leucocitos de varios grados de madurez.

La caracterización y eventual purificación de las células madre hematopoyéticas humanas ha sido un proceso lento y difícil. Los estudios en ratones, gracias a su similitud inmunológica con el humano, han permitido identificar los marcadores de superficie de las células madre hematopoyéticas humanas que se asocian con el injerto del trasplante hematopoyético.

Inespecificidad

La presencia de un alto número de progenitores linfoides B (CD19+ y CD34+) pueden provocar un resultado falso-positivo en cuanto al contenido de células madre hematopoyéticas en un injerto.

Expresividad variable

Debido a que las células hematopoyéticas pueden ser CD34-, la expresividad de CD34 puede ser reversible en las células madre hematopoyéticas que retienen la capacidad de reconstitución secundaria, y también sabemos que la variación en los niveles de CD34 puede estar influenciada por la estimulación de citocinas e integrinas.

A pesar de todo, el CD34 constituye hasta el momento el marcador más útil y práctico para cuantificar la célula madre hematopoyética según lo confirman sus perfiles genéticos. Las células CD34 negativas, expresan preferentemente genes

de diferenciación neural, epitelial y muscular, en tanto que las Cd34 positivas expresan sobre todo genes responsables de su movilización y alojamiento en la médula ósea, tales como receptores de quimiocinas e integrinas. Esta evidencia molecular explica la mayor capacidad de injerto de estas células.⁵

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es un procedimiento en el que las células progenitoras hematopoyéticas son infundidas para restaurar la función de la médula ósea (MO), afectada parcial o completamente por enfermedades propias de la MO o como consecuencia de una alteración secundaria.

La historia del TCPH inicia con el concepto propuesto por Arthur Pappenheim en el siglo XIX, de la existencia de una célula precursora de la que se originan todas las células hematopoyéticas. Los trabajos realizados por Lorenz et al. En 1951, mostraron que era posible evitar la muerte de ratones sometidos a dosis letales de radiación, mediante la administración de células de MO de un ratón de la misma cepa, y en 1956 se demostró que esto era debido a la colonización de la MO del ratón receptor por las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) del donador.

Los primeros TCPH en humanos fueron realizados por E. Donnall Thomas en 1957, quien realizó 6 trasplantes a pacientes con diversas patologías. Las CPH fueron obtenidas de costillas de cadáveres, costillas resecadas de pacientes durante cirugía y mediante la aspiración de crestas ilíacas de pacientes y de donadores sanos. Los resultados fueron pobres, ya que sólo se logró un injerto transitorio en 2 casos, sin embargo esta primera experiencia demostró que es posible administrar cantidades relativamente grandes de MO por vía intravenosa sin toxicidad.

En 1959, Mathé logró llevar a cabo el primer trasplante alogénico, aunque el paciente falleció por múltiples complicaciones de lo que ahora conocemos como enfermedad injerto contra hospedero (EICH) crónica. En la década de los 60's, Mathé y Thomas intentaron infructuosamente realizar trasplantes alogénicos en pacientes con leucemia aguda usando radiación corporal total (RCT), con dosis de 400-600cGy. Posteriormente, estudios en perros mostraron que se requerían dosis

superiores a 800cGy para lograr una inmunosupresión suficiente, que permitiera que la MO alogénica se injertara.

Un descubrimiento crítico en el desarrollo del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas fue el reconocimiento del complejo mayor de histocompatibilidad en humanos (HLA), descrito por Dausset y Payne. Este descubrimiento hizo posible la selección donadores compatibles, que permitieran un injerto duradero sin el riesgo de EICH letal, y permitió además que en 1968, los grupos de Minneapolis y Milwaukee, en forma simultánea, llevaran a cabo los primeros trasplantes exitosos al utilizar MO alogénica de un donador HLA compatible, en niños con inmunodeficiencia grave.

En marzo de 1969, el grupo de Seattle llevó a cabo con éxito, el primer trasplante HLA compatible en un paciente leucémico, empleando RCT y ciclofosfamida (CFM) como esquema de acondicionamiento. Este mismo grupo publicó en 1972 los primeros 4 casos de anemia aplásica grave (AAG), tratados con trasplante de MO obtenida de donadores HLA idénticos, en los que se empleó CFM como única terapia de acondicionamiento, logrando que 2 de ellos fueran sobrevivientes a largo plazo. Estos estudios demostraron que los pacientes con AAG pueden ser trasplantados exitosamente, y que aquellos con leucemia aguda de mal pronóstico pueden ser curados con TCPH utilizando RCT y CFM.

En México, la historia de los trasplantes de CPH puede dividirse en 2 etapas. La primera inicia en el año de 1980 cuando el Dr. Ricardo Sosa y sus colaboradores llevaron a cabo el primer TCPH en el Instituto Nacional de la Nutrición, en la Ciudad de México. La segunda etapa comenzó a partir de 1995, con el entrenamiento en el extranjero de médicos mexicanos en TCPH.

Una causa que influyó en el desarrollo de los programas de TCPH fue la evolución de los conocimientos en esta área: a) se sustituyó el uso de CPH de médula ósea por CPH de sangre periférica; b) se simplificaron los métodos para llevar a cabo los trasplantes, y c) se iniciaron los alotrasplantes con esquemas de acondicionamiento no mieloablativos.

Programa de TCPH en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

El primer trasplante de CPH del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) fue realizado en octubre de 1989 por médicos del Servicio de Hematología, a una niña de 12 años con diagnóstico de AAG, sin embargo el resultado fue poco favorable y el procedimiento no volvió a realizarse hasta casi 10 años después.

En el periodo comprendido de 1998 a 2005 se realizaron en el Hospital Infantil de México 35 trasplantes de células progenitoras, 11 trasplantes autólogos (25.72%) y 24 trasplante alogénicos (74.28%), de los cuales 23 fueron de MO, 4 de sangre periférica y 3 de cordón umbilical, 5 de fuente no especificada; reportándose hasta el momento supervivencia libre de evento de 45% en estos pacientes. Del año 2007 al 2010 se realizaron 9 trasplantes, 6 alogénicos de donador relacionado (66%) y 3 de cordón umbilical (33%), con una supervivencia libre de evento de 56.44. El programa se interrumpió por más de un año, reiniciando en agosto de 2011, hasta la fecha se han realizado 10 trasplantes más (9 de donador relacionado y uno con doble cordón umbilical), con 2 fallecimientos por complicaciones infecciosas asociadas a EICH grado IV. La supervivencia libre de evento a un año en esta nueva etapa del TCPH en nuestro Hospital, es de 80% a 18 meses.

Objetivos del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

El TCPH tiene 2 objetivos principales:

Sustituir la hematopoyesis del paciente, por ser insuficiente, total o parcialmente defectuosa o neoplásica.

Permitir la administración de un tratamiento antineoplásico intenso con dosis muy elevadas de quimioterapia o radioterapia. En este caso, el TCPH es realmente un recurso de rescate que contrarresta la mielosupresión grave y, es potencialmente mortal del tratamiento antineoplásico.

Para su curación, algunos tumores precisan un tratamiento de intensidad superior a la que se utiliza en los tratamientos estándar, pero inferior a la que origina muerte por toxicidad extra hematológica. Esto originaría mielosupresión prolongada o definitiva, si no se acompañara de la administración de CPH.

Además, en el TCPH procedentes de un donador sano, las células inmunocompetentes derivadas del injerto son capaces de establecer una potente respuesta inmune en contra de las células neoplásicas residuales, fundamento que se conoce como enfermedad injerto contra tumor.

Tipos de trasplante

Dependiendo del origen de las CPH, los trasplantes pueden ser autólogos o alogénicos.

En el trasplante autólogo, los pacientes reciben sus propias CPH, las cuales deben ser cosechadas antes del acondicionamiento. Este tipo de trasplante se realiza preferentemente en tumores sólidos.

En el trasplante alogénico, los pacientes reciben las células madre de un individuo de la misma especie. Puede tratarse de un donador relacionado, que es generalmente un hermano o uno de los padres. Cuando el hermano es un gemelo idéntico, al trasplante se le denomina singénico, y si el donador es el padre o la madre, se le llama haploidéntico. El donador de CPH puede también ser no relacionado, como en el caso del trasplante de cordón umbilical o de individuos registrados en bancos de CPH.

Fuentes de células progenitoras hematopoyéticas

Médula ósea

Las células madre de la MO se obtienen mediante múltiples punciones en ambas crestas ilíacas posteriores. Estas punciones se efectúan bajo anestesia general. Aunque en algunos casos puede realizarse bajo anestesia epidural. La anestesia general es recomendable, ya que permite que el procedimiento sea más cómodo para el paciente y además facilita la labor del médico. La duración habitual de una aspiración de MO es de 2 a 3 horas. El volumen aspirado de MO es entre 10-20 mL por Kg de peso del donador o receptor, dependiendo quien sea más pequeño. Niños tan pequeños como de 4 meses, han sido en forma segura y exitosa donadores de MO. La dosis es de 2.5×10^8 células nucleadas por Kg de peso del receptor. La MO

obtenida puede ser administrada inmediatamente al paciente por vía intravenosa o crio preservada para un uso posterior.

El efecto secundario más frecuente que provoca la donación de MO es el dolor en las zonas de punción, que puede persistir por 24 horas o más y que se controla con analgésicos por vía oral. En el HIMFG, al igual que en la mayor parte del mundo, el empleo de este tipo de fuente es histórico.

Sangre periférica

Desde 1909 se suponía la presencia de células tallo en la sangre periférica (CTSP), pero la investigación científica para su identificación inició en 1951. Las células progenitoras hematopoyéticas residen en la fracción mononuclear de la sangre periférica, en una concentración de sólo 1% a 10% de las encontradas en MO. Después de la mielosupresión inducida por quimioterapia y del uso de factores de crecimiento, se incrementa el número de progenitores hematopoyéticos en la circulación. La colección de gran número de células mononucleares de sangre periférica es posible gracias al desarrollo de procedimientos de aféresis.

Las CTSP ofrecen ventajas sobre las de MO, lo que ha favorecido el rápido incremento en su uso. Estas ventajas incluyen su recolección rápida y a bajo costo, sin la necesidad de anestesia general; la posibilidad de realizar el procedimiento de manera ambulatoria; su utilización en pacientes con enfermedades que afectan la MO o con antecedente de radiación pélvica; reducción del periodo de citopenias después de la mieloablación, y menor frecuencia de complicaciones infecciosas.⁵

Cordón umbilical

Se obtiene por punción de la vena umbilical una vez producido el parto, se extraen 70 a 120 ml. El volumen limitado hace que el número total de células madres sea pequeño y la recuperación inmunohematológica sea lenta.

Indicaciones de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en Pediatría.

Enfermedades hematológicas benignas

La AAG es un ejemplo en el cual varios tratamientos están disponibles. El uso de corticoesteroides, andrógenos, globulina anti linfocito (GAL) y ciclosporina A (CsA), solos o en combinación, pueden producir remisión y en ocasiones la curación, sin embargo, aun cuando estos tratamientos sean exitosos existe un riesgo sustancial de mielodisplasia o leucemia aguda subsecuente, especialmente en niños. Además durante estos tratamientos se requiere apoyo transfusional intenso que compromete el éxito de un trasplante posterior. El TCPH alogénico es superior a todas estas alternativas terapéuticas, ya que ofrece con mayor frecuencia una recuperación hematológica persistente.

La anemia de Fanconi (anemia aplásica constitucional) es una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por malformaciones congénitas, falla medular y un alto riesgo de desarrollar leucemias agudas y otros tipos de tumores sólidos. La inestabilidad cromosómica es un rasgo característico de estos pacientes y la base para su diagnóstico. Se puede acompañar de malformaciones óseas (ausencia de radio, implantación baja del pulgar, micrognatia), hipopigmentación o hiperpigmentación, estatura baja, microftalmía, malformaciones del tracto urinario (agenesia renal), retraso mental, malformaciones gastrointestinales (agenesia rectal o duodenal), anomalías cardíacas, sordera, hipogonadismo y síndrome de falla medular.

Neoplasias hematológicas

Leucemia aguda linfoblástica (LAL).

La LAL puede ser curada con quimioterapia de primera línea en aproximadamente 80% de los casos. El grupo BFM reporta una supervivencia libre de evento de 75.9% a 8 años, en los pacientes incluidos en el estudio BFM90. Resultados similares han sido descritos por diferentes grupos internacionales, como el grupo del Hospital St. Jude. Después de una recaída tardía a MO o extramedular aislada, la supervivencia libre de evento es de 35% a 44%, cuando se emplea quimioterapia convencional, y este porcentaje es significativamente menor si la recaída ocurre durante tratamiento o en los primeros 6 meses de haberlo terminado de manera electiva.

El trasplante autólogo no ha demostrado mejores resultados que los esquemas intensos de quimioterapia, en pacientes con LLA de alto riesgo en remisión. Este procedimiento podría tener la ventaja de que no produce EICH, sin embargo la respuesta que se puede alcanzar es sumamente limitada, pues aun cuando el paciente se encuentre en remisión medular “completa” antes del trasplante, existe plena evidencia del gran riesgo de injertar células leucémicas en el hospedero y la tasa de recaídas es muy alta.

El papel del trasplante alogénico para paciente pediátricos con LLA ha sido tema de discusión, particularmente en primera remisión, pero si ha mostrado beneficio en pacientes con recaídas tempranas.

El donador relacionado constituye la mejor fuente de CPH, de tal manera que cuando se planea un TCPH, lo primero es investigar a los hermanos del paciente. La fuente de CPH puede ser médula ósea o sangre periférica de donador previamente estimulado. Sin embargo, sólo es posible encontrar un hermano HLA compatible en menos del 20% de los casos que requieren TCPH.

Leucemia aguda mieloblástica (LMA)

El pronóstico de la LMA en niños ha mejorado significativamente en las últimas 2 décadas. Con el uso de quimioterapia intensa, actualmente es posible obtener remisión completa de la enfermedad en 80% a 90% de los casos, y 30% a 70% pueden ser curados si reciben quimioterapia de mantenimiento. El trasplante de donador relacionado en primera remisión permite alcanzar supervivencia prolongada en 45% a 64% de los casos, por lo que representa una muy buena opción para aquellos pacientes con LMA de alto riesgo, cuyas tasas de supervivencia sin TCPH son inferiores a estas cifras.

Leucemia granulocítica crónica (LGC)

De los trastornos mieloproliferativos, la LGC es la variante más común en niños, aunque representa sólo 1% a 3% de todas las leucemias que se presentan a esta edad. La incidencia estimada de Cr Ph+ en los pacientes pediátricos se ha reportado

en menos de uno en 100,000 y es menos común en niños menores de 2 años comparados con otros grupos de edad.

Las características clínicas moleculares, citogenéticas, morfológicas de esta enfermedad en los niños, son similares a las del adulto.

Al igual que en adultos, el TCPH alogénico se ha considerado principalmente para aquellos pacientes con LGC Cr Ph+. Debe tenerse en cuenta que aun cuando se tenga un donador relacionado y a pesar de su potencial curativo, hay factores y riesgos para el procedimiento en este tipo de niños, por lo que cada paciente debe ser seleccionado adecuadamente. En un estudio, se evaluaron 314 niños con LG Cr Ph+ entre 1985 y 2011, la supervivencia global y la supervivencia libre de evento a 3 años fueron de 66% y 55%, respectivamente, y en el análisis multivariado los pacientes mostraron tener mejores resultados cuando eran trasplantados en fase crónica vs. crisis blástica, aunque hay que destacar que más de un tercio de los pacientes en fase aguda o crisis blástica estaban vivos y libres de enfermedad a 3 años. La supervivencia libre de evento fue aún mejor en aquellos pacientes pediátricos que se trasplantaron en los primeros 6 meses del diagnóstico, estos resultados difieren de lo reportado en adultos en donde se ha visto que se tienen mejores resultados, si los pacientes se trasplantan en los 12 meses que siguen al diagnóstico.

Linfomas Hodgkin y no Hodgkin

El pronóstico para niños y adolescentes con Linfomas de Hodgkin (LH) y no Hodgkin (LNH) es en general bueno. No así en aquellos pacientes con enfermedad avanzada, en los que fallan a la primera línea de tratamiento con quimioterapia y radioterapia o en quienes presentan enfermedad recurrente, particularmente si se trata de recaídas tempranas. Estos casos pueden verse beneficiados y tener una supervivencia libre de enfermedad prolongada con un trasplante autólogo. Este procedimiento se ha preferido históricamente sobre el trasplante alogénico, debido a la mayor facilidad para realizarlo y a las complicaciones inmunológicas que se presentan en el trasplante alogénico.

En los últimos años, la introducción de los regímenes de baja intensidad y la disminución de la muerte relacionada al trasplante han permitido revalorar el trasplante alogénico en etapas avanzadas, considerando el efecto injerto contra tumor. En LNH, los factores de riesgo que predicen una mejor supervivencia son el tipo histológicos y el estado de la enfermedad. En el LH, el nivel de DHL pretrasplante representa un marcador de alto riesgo, siendo la supervivencia libre de evento de 42% vs. 0% en pacientes con DHL normal o alta, respectivamente.

Indicaciones del TCPH en linfomas de acuerdo con el Grupo Europeo de Trasplante de Médula Ósea (EBMT):

Enfermedad	Condición	Donador compatible	Disparidad de 1 antígeno	Disparidad \geq 1 antígeno	Trasplante autólogo
Linfoma no Hodgkin	1 ^{ra} remisión	No recomendado	No recomendado	No recomendado	No recomendado
	1 ^{ra} remisión alto riesgo	Opción clínica	Opción clínica	No recomendado	Opción clínica
	2 ^{da} remisión	Indicado	Indicado	Opción clínica	Opción clínica
Linfoma de Hodgkin	1 ^{ra} remisión	No recomendado	No recomendado	No recomendado	No recomendado
	Recaída, 2 ^{da} remisión	Opción clínica	En desarrollo	No recomendado	Indicado

Tumores sólidos

El trasplante autólogo de MO es un método en el cual se otorgan altas dosis de terapia citorreductiva a pacientes con cáncer. Muchos de los investigadores han demostrado una curva de dosis-respuesta para tumores. La toxicidad hematológica con frecuencia limita la intensidad de muchos de los regímenes quimioterapéuticos disponibles, para el tratamiento en este tipo de enfermedades.

Neuroblastoma

El neuroblastoma (NB) es un tumor de las células de la cresta neural, que dan origen al sistema nervioso simpático. En países anglosajones representa el tumor sólido extracraneal más común de la infancia, con una incidencia anual de aproximadamente 8 casos por millón de niños en los Estados Unidos. Los pacientes con tumor completamente localizado o aquellos con diseminación a tejidos adyacentes o a ganglios linfáticos, tienen un excelente pronóstico cuando se tratan

con resección quirúrgica con o sin quimioterapia. Los pacientes menores de un año de edad al diagnóstico y con estadios I, II o IVS, también tienen un excelente pronóstico. El 40% a 60% de pacientes con estadio III que tienen marcadores biológicos favorables como una sola copia de N-myc e hiperdiploidía, pueden también ser curados con terapia convencional, dependiendo en parte de la posibilidad de resección quirúrgica. Desafortunadamente, entre una tercera parte y la mitad de los neuroblastomas son estadios IV en niños mayores de un año de edad. A pesar de que las nuevas terapias y regímenes de quimioterapia han incrementado la posibilidad de obtener remisión en pacientes con NB estadio IV, la supervivencia libre de enfermedad a largo plazo se mantiene baja en estos casos.

Sarcoma de Ewing

El sarcoma de Ewing (SE) es un tumor maligno primario de hueso, que se presenta en niños y adolescentes. Los pacientes con enfermedad multifocal o recaída temprana o múltiple, tienen muy mal pronóstico a pesar del uso de cirugía, quimioterapia y radioterapia. La introducción de terapia multimodal en la última parte de la década de los 60's y principios de los 70's, mejoró el pronóstico. Sin embargo, los pacientes con enfermedad metastásica al diagnóstico, enfermedad localizada, pero extensa o con tumores irreseccables del tronco, seguían siendo de alto riesgo de falla al tratamiento y pocos de estos casos podían ser curados. La mayoría respondía inicialmente al tratamiento, pero eventualmente sufría recaída, principalmente en pulmón, hueso o MO y moría con enfermedad diseminada. Los tratamientos mieloablativos con rescate con MO fueron usados por varios investigadores, para mejorar el pobre pronóstico de los pacientes con SE que presentaban estas características.

En 1981, Cornbleet et al. obtuvieron resultados prometedores usando altas dosis de melfalán, con rescate con trasplante de MO. Los pacientes tenían una respuesta inicial buena, pero generalmente recaían si eran tratados cuando la respuesta era sólo parcial. En 1984 el grupo EBMT reportó 35 casos, y de forma similar demostró un porcentaje de respuesta de 66% en los pacientes evaluados. El análisis en 1992 del EBMT europeo, mostró una supervivencia a 2 años de 31% para 14 pacientes

con SE metastásico trasplantados en primera remisión completa y una frecuencia de 37% para pacientes trasplantados en segunda remisión completa. Para 28 pacientes trasplantados con enfermedad medible, la supervivencia a 2 años fue de 25%. En recaída, la tasa de supervivencia a 2 años fue de 33% para 19 pacientes con recaída sensible al tratamiento y de 10% para aquellos con resistencia a tratamiento.

Tumores cerebrales

Los tumores del sistema nervioso central (SNC) son un grupo heterogéneo de neoplasias, que representa 16% a 20% de todas las neoplasias en los pacientes pediátricos, siendo únicamente rebasados en frecuencia por la LLA en este grupo de edad. La sobrevida a 5 años en pacientes con tumores del SNC, es de aproximadamente 50%. Los tumores más frecuentes son los astrocitomas de bajo grado y los tumores embrionarios como meduloblastoma. Los tumores cerebrales malignos en los niños tienen un mal pronóstico. La sobrevida libre de enfermedad se encuentra entre 40% y 60%, para los tumores más frecuentes (meduloblastoma y ependimomas).

Los pacientes con gliomas de alto grado que progresan después de una terapia inicial tienen un pronóstico muy malo, con una supervivencia media de 7 meses. Gianone y Wolff llevaron a cabo un estudio con 16 pacientes con gliomas del SNC con progresión, previamente tratados con radiación máxima y quimioterapia. Los pacientes entraron a un estudio de fase II con altas dosis de etopósido, seguidas de TCPH autólogo. Tres pacientes (19%) experimentaron respuesta tumoral. Los pacientes respondedores fueron tratados con 2 ciclos más, de altas dosis de etopósido. La media de sobrevida para los 16 pacientes fue de 4 meses, con 3 respondedores que vivieron 9, 10 y 54 meses postrasplante. Estos resultados correlacionan con los resultados obtenidos cuando se emplean dosis estándar de etopósido. La severa mielosupresión asociada con este régimen y su modesta actividad sugiere que esta alternativa no es eficiente. Deben realizarse más estudios con etopósido solo o en combinación con otros agentes citotóxicos.

Inmunodeficiencias

La inmunodeficiencia severa combinada (SCID) es una alteración en la diferenciación de los linfocitos T. La incidencia estimada es de 1 en 75,000 nacimientos. Algunos investigadores catalogan otras inmunodeficiencias de células T en el grupo de SCID, como por ejemplo la deficiencia de proteína ZAP 70, deficiencia CD3 γ , deficiencia en la expresión de HLA clase II, deficiencia de ligasa IV, etc. Esta patología es una emergencia pediátrica, y se necesita un tratamiento inmediato desde que el diagnóstico es confirmado. El tratamiento de elección es el trasplante alogénico, el cual provee la recuperación en aproximadamente 90% de la línea celular deficiente, cuando se lleva a cabo el procedimiento poco después del diagnóstico.

CD34 es una proteína codificada por el gen CD34 en los seres humanos, ratones, ratas y otras especies. CD34 deriva su nombre del grupo de protocolos de diferenciación que identifica antígenos de superficie celular, se describió por primera vez en células madre hematopoyéticas de forma independiente por Civin et al. y Tindle et al. como una glicoproteína de superficie celular y funciona como un factor de adhesión célula-célula. También puede mediar la unión de las células madre hematopoyéticas a la matriz extracelular de la médula ósea o directamente a las células del estroma. Clínicamente, se asocia con la selección y el enriquecimiento de células madre hematopoyéticas para trasplantes de médula ósea. Debido a estas asociaciones históricas y clínicas, la expresión de CD34 se relaciona casi de forma ubicua con las células hematopoyéticas, sin embargo, también se encuentra en muchos otros tipos de células.

La proteína CD34 es un miembro de una familia de proteínas sialomucinas transmembrana de un solo paso que muestran expresión en tejido hematopoyético temprano y tejido vascular asociado. Sin embargo, se sabe poco sobre su función exacta, es también una molécula de adhesión importante y se requiere para que las células T entren en los ganglios linfáticos. Se expresa en el endotelio de los ganglios linfáticos, mientras que la L-selectina a la que se une está en la célula T.

Por el contrario, en otras circunstancias, se ha demostrado que el CD34 actúa como "Teflón" molecular y bloquea la adhesión de los mastocitos, los eosinófilos y los precursores de células dendríticas, y facilita la apertura de la luz vascular. Finalmente, los datos recientes sugieren que CD34 también puede desempeñar un papel más selectivo en la migración dependiente de quimioquinas de los precursores de eosinófilos y células dendríticas. Independientemente de su modo de acción, bajo cualquier circunstancia CD34, y sus familiares podocalyxin y endoglycan, facilita la migración celular.

Las células que expresan CD34 (células CD34 +) se encuentran normalmente en el cordón umbilical y la médula ósea como células hematopoyéticas, o en células madre mesenquimales , células progenitoras endoteliales , células endoteliales de vasos sanguíneos pero no linfáticos (excepto linfáticos pleurales), mastocitos , células dendríticas subpoblacionales (que son negativas al factor XIIIa) en el intersticio y alrededor de los anexos de la dermis de la piel, así como las células en los tumores de tejidos blandos como DFSP , GIST , SFT, HPC , y hasta cierto punto en MPNST , etc. La presencia de CD34 en células no hematopoyéticas en diversos tejidos se ha relacionado con fenotipos de células madre progenitoras y adultas.

Es importante mencionar que las células madre hematopoyéticas a largo plazo (LT-HSC) en ratones y humanos son las células hematopoyéticas con mayor capacidad de autorrenovación. Las HSC en humanos expresan el marcador CD34.

CD34 se expresa en aproximadamente el 20% de las células madre hematopoyéticas murinas, y puede estimularse e invertirse.

IV. ANTECEDENTES

La identificación prospectiva de HSCs usando marcadores de superficie celular y citometría de flujo se describe mejor para HSCs murinas.¹

Los avances recientes en tecnologías de imágenes han avanzado mucho en nuestra comprensión de la organización de la médula ósea. La médula ósea en ambos huesos largos (p. Ej., fémur) y huesos planos es altamente vascular. En los huesos largos, las arterias longitudinales centrales dan lugar a arterias radiales que a su vez se ramifican en arteriolas cerca del endostio. La transición de las arteriolas ocurre cerca del endosteo. Los sinusoides venosos se extienden hacia la cavidad central donde se unen para formar un gran seno central. Los sinusoides venosos que contienen numerosas fenestras se consideran los sitios principales de salida de leucocitos de la médula ósea a la circulación. Los osteoblastos y las células de revestimiento óseo forman una capa entre el hueso mineralizado y la médula ósea. Osteoblastos en forma de huso, pueden representar un osteoblasto inmaduro también se localizan cerca del endostio. Existe una red de células estromales intercaladas entre islas de células hematopoyéticas e incluye células madre mesenquimales, abundantes células reticulares y adipocitos.

La ubicación de las HSC en la médula ósea es controvertida, los estudios iniciales utilizando poblaciones enriquecidas de HSC en los receptores sugirieron una ubicación en su mayoría endosteal para HSCs.¹

La médula ósea contiene varias poblaciones de células estromales implicadas en la regulación de la hematopoyesis. Hay datos emergentes de que las poblaciones específicas de células estromales regulan distintas poblaciones de progenitores hematopoyéticos; se han identificado reguladores positivos y negativos de la hematopoyesis.

La evidencia actual respalda una ubicación perivascular para la mayoría de las HSC, con una preferencia por la región endostica.

Hasta la fecha, el desarrollo de HSC se ha caracterizado con el mayor detalle en el ratón, que en muchos aspectos sirve como modelo para la hematopoyesis. La hematopoyesis embrionaria en ratones comienza después de la gastrulación, cuando un subconjunto de células precursoras mesodérmicas especializadas se comprometen a convertirse en células sanguíneas. Los primeros precursores migran al saco vitelino para iniciar la producción embrionaria de glóbulos rojos, mientras que las HSC definitivas, que posiblemente se originan en un subconjunto diferente de células mesodérmicas, se desarrollan en una ubicación diferente. De manera importante se requiere que las HSC en desarrollo completen un proceso de maduración que permita su injerto y supervivencia en futuros nichos hematopoyéticos, además el conjunto inicial de HSC que surge de los sitios hematogénicos debe expandirse para mantener un suministro adecuado de HSCs para la vida posnatal. ²

A pesar del progreso en la identificación y cuantificación de HSC en órganos fetales, se sabe poco sobre los orígenes de los diferentes grupos de HSC y sus contribuciones relativas a la hematopoyesis. Ha sido difícil rastrear precursores de HSC en embriones de mamíferos en etapas de desarrollo anteriores cuando estas células expresan marcadores de superficie diferentes en comparación con las HSC maduras, y cuando aún no puntúan en los ensayos de trasplante convencionales. Para facilitar la caracterización de estos procesos de desarrollo en el embrión, se han generado modelos de ratón específicos del estadio de linaje y desarrollo y se han mejorado los ensayos funcionales para precursores de HSC inmaduros.

En cuanto a los marcadores de desarrollo de HSC, los marcadores que se expresan consistentemente en las HSC inmaduras y maduras fetales incluyen Cd34, Cd31, Kit y Endomucina, aunque su expresión no se limita a las células hematopoyéticas.

2

La creciente cantidad de información sobre el nicho de HSC en los últimos años ha conducido paradójicamente a una situación de confusión relativa, en prácticamente todos los tipos de células no hematopoyéticas en la médula ósea (osteoblastos, osteocitos, células endoteliales, células reticulares estromales, pericitos, incluido

MSC- células similares, adipocitos, células de Schwann no mielinizadas, neuronas simpáticas) más varias poblaciones hematopoyéticas maduras (macrófagos o reguladores críticos de la función de HSC).³

Los estudios del nicho ahora han determinado con mayor precisión los componentes que regulan las HSC y en cierta medida, otros progenitores hematopoyéticos en la médula ósea. Al igual que cualquier sistema interactivo, existen relaciones reguladoras complejas entre las células de la médula ósea.

Un nicho se define por la anatomía y la función, un microambiente de tejido local que mantiene y regula directamente un tipo particular de célula madre o progenitor.

La identificación fiable de las HSC mediante marcadores in vivo ha sido un paso importante en la definición de nicho, a pesar de la capacidad de aislar HSCs mediante citometría de flujo durante décadas la identificación de HSCs dentro de los tejidos siguió siendo un desafío debido a que la combinación de marcadores inmunofluorescentes utilizados para aislar HSCs por citometría de flujo era demasiado compleja para microscopía.⁴

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mayor parte de la información sobre la composición del nicho reticular y medular de médula ósea ha sido generado en modelos murinos. No existen estudios que describan la médula ósea de pacientes pediátricos postrasplante de médula ósea con antecedente de enfermedad hemato oncológica. Es por lo que se pretende conocer la composición del nicho hematopoyético y mesenquimal de la médula ósea y así de ésta forma nos permitirá con otras investigaciones conocer en un futuro la participación de éstos nichos en la fisiopatología.

VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las características histológicas e inmunofenotípicas del nicho hematopoyético y reticular de la médula ósea de pacientes pediátricos postrasplantados de médula ósea?

VII. JUSTIFICACIÓN

Se han descrito diferentes nichos hematopoyéticos donde las células troncales hematopoyéticas (CTH) y células troncales / estromales mesenquimales (MSC) interactúan con otras poblaciones celulares regulando la hematopoyesis, sin embargo la arquitectura y composición posterior al trasplante de médula ósea pediátrica no ha sido estudiada en modelos humanos.

Este estudio nos permitiría sentar las bases para que a mediano a largo plazo se pueda utilizar este conocimiento y determinar el éxito del procedimiento así como la composición y distribución de las células troncales hematopoyéticas y células troncales/estromales mesenquimales y otros componentes del nicho hematopoyético en cuanto a sus características histológicas e inmunofenotípicas y posiblemente proporcionar potenciales dianas terapéuticas.

VIII. OBJETIVOS

Objetivo General:

Describir las características histológicas e inmunofenotípicas del nicho hematopoyético y reticular de la médula ósea de pacientes pediátricos postrasplantados de médula ósea del Hospital Infantil de México Federico Gómez en el período Enero 2009 a Enero 2017.

Objetivo Específico:

1. Identificar las características histológicas del nicho hematopoyético y reticular de la médula ósea pediátrica postrasplantada según sexo y edad.
2. Describir las características inmunofenotípicas del nicho hematopoyético y reticular de la médula ósea de pacientes pediátricos postrasplantados de médula ósea mediante reacciones de inmunohistoquímica con NGFR (CD271), CD10 y CD34.

IX. MATERIAL Y MÉTODO

9.1 Tipo de estudio:

Descriptivo, observacional, retrospectivo, de corte transversal.

9.2 Área de estudio:

El estudio se realizará en el Departamento de Patología Clínica y Experimental del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

9.3 Población de estudio:

Pacientes pediátricos con enfermedad hematológica trasplantados de médula ósea.

9.4 Tipo de muestreo:

Se realizó un muestreo probabilístico, por conveniencia.

9.5 Tamaño de la muestra:

Se seleccionaron 85 pacientes pediátricos postrasplantados de médula ósea y con antecedente de neoplasia hemato oncológica y con diagnóstico histopatológico previo de neoplasia hemato oncologica.

9.6 Criterios de Inclusión:

- Biopsias uni o bilaterales en parafina de pacientes pediátricos de 1 día de vida a 18 años
- Pacientes con reporte de patología previo de enfermedad hemato oncológica.
- Adecuado estado de conservación del material biológico.
- Que la información requerida en el instrumento de recolección de datos esté completa en la hoja de reporte de biopsia.

9.7 Criterios de Exclusión:

Se excluyeron los bloques de parafina con material insuficiente o en malas condiciones.

9.8 Técnica y procedimiento:

El procedimiento consiste en hacer cortes de tejido de 2 a 4 micras que se colocan en un baño de flotación con agua destilada, los tejidos se recogen utilizando laminillas tratadas con poli-L-lisina y se colocan en la estufa durante 30 minutos y se procede con la desparafinación e hidratación de los tejidos pasándolos a través de xilol y una serie de alcoholes graduales.

Para realizar el proceso de inmunohistoquímica se utilizó el kit MACH 1 de Biocare Medical número de catálogo M1U539L10.

Se inicia el procedimiento de inmunohistoquímica efectuando la recuperación de antígenos sumergiendo las laminillas en un recuperador de antígenos (DIVA DECLOAKER de Biocare Medical catalogo DV2004LX) y colocándolas en una olla de presión eléctrica, llevando la presión a 20 libras durante 5 minutos, se dejan enfriar durante 20 minutos y se colocan en un bloqueador de peroxidasas durante 10 minutos, se lavan con agua destilada y se les agrega el bloqueador de proteínas durante 5 minutos, se decanta el bloqueador de proteínas y se les agrega los anticuerpos primarios, CD34 de Biocare Medical diluido 1:100 clona QBEnd/10 número de catálogo CM084C y CD10 de Biocare Medical diluido 1:100 clona 56C6 catálogo CM129 y se incuban durante 20 minutos. Se lavan con PBS y se les agrega la sonda de ratón y se incuban 20 minutos. Se lavan con PBS, se les agrega el polímero conjugado con peroxidasa y se incuban durante 20 minutos. Se revelan con una mezcla de substrato-amortiguador y cromógeno de diaminobencidina durante 3 minutos.

Las laminillas se contrastan con hematoxilina durante 1 minuto, se lavan, se viran con una solución de carbonato de litio, se lavan con agua y se deshidratan mediante una serie de alcoholes graduales hasta xilol, se montan y se observan al microscopio de luz convencional.

9.8.1 Fuente de Información:

La fuente fue primaria, realizada a través de la revisión de las laminillas teñidas con HE que se encuentran en los archivos del departamento de Anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, así mismo la evaluación de las reacciones de inmunohistoquímica realizadas.

9.8.2. Técnica de recolección de la información:

Se realizó un instrumento de recolección de la información que contenía los datos necesarios para cumplir con los objetivos del estudio: edad, sexo, diagnóstico histopatológico previo, características histológicas (celdillas óseas totales, celdillas óseas valorables, arteficio, integridad de las trabéculas óseas, celularidad, relación mieloide-eritroide, osteoblastos, adipocitos, megacariocitos, fibrosis, reacciones de inmunohistoquímica CD34, CD10, CD271 (localización, distribución e intensidad), hemosiderina, arterias, otros).

Se solicitaron los permisos necesarios a la jefatura del departamento de patología para revisión de los archivos de registros histológicos para obtener el número de folio de quirúrgico de los pacientes.

9.8.3 Variables del estudio según Objetivos:

- Edad
- Sexo
- Características histológicas
- Reacción de inmunohistoquímica
- CD10
- CD34
- NGFR o CD271

X. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se considera un estudio sin riesgo, ya que las muestras de biopsia fueron obtenidas del archivo del Departamento de Patología del Hospital de pacientes para la estadificación de neoplasias hematológicas, se solicitó acceso a la jefatura del departamento de patología para revisión de los archivos de registros y obtener el número de folio de quirúrgico y bloques de parafina respectivamente para la realización de las reacciones de inmunohistoquímica llevadas a cabo. Se estableció el anonimato de los pacientes, se respetó la información de los registros de biopsias sin alterarlos. Los resultados se darán a conocer al Hospital Infantil de México Federico Gómez.

XI. PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO

El enfoque de análisis de este estudio fue cuantitativo y cualitativo.

Método de procesamiento de la información:

La información fue recolectada y procesada directamente por la autora en el sistema estadístico de ciencias sociales SPSS versión 19, para Windows.

Método de análisis de la información:

La presentación de resultados se llevó a cabo en cuadros y gráficos que se construyeron en el programa Microsoft Office Excel y Microsoft Office PowerPoint 2010, conforme el plan de análisis.

PLAN DE ANALISIS

Análisis Simples o Univariado.

- a. Edad.
- b. Sexo
- c. Características histológicas

Cruce de variables o análisis bivariado.

1. Edad vs. Sexo
2. Integridad de trabéculas óseas vs osteoblastos
3. NGFR vs distribución vs localización vs intensidad
4. CD10 vs distribución vs localización vs intensidad
5. Relación mieloide-eritroide vs edad
6. Celularidad vs edad

XII. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Dimensiones	Indicador	Escala/valor
Edad	Período de tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el día de inclusión del estudio		años	0-5 6-11 12-18
Genero	Es el conjunto de características fenotípicas y genotípicas que caracterizan los individuos de una especie dividiéndolos en masculinos y femeninos.			Femenino Masculino
Características histológicas	Todas las características histológicas normales observadas al microscopio óptico y valoradas por el patólogo (a).	Celdillas óseas totales Celdillas óseas valorables Celularidad	Número absoluto Número absoluto Porcentaje (%) Mayor o igual a 30 y menor a 40 40-60	Hipocelular Hipercelular Adecuada

			70-90 Mayor 90	
		Relación mieloide- eritroide		1:4 1:5 2:1 3:1 Otra
		Integridad de trabéculas óseas		Sin alteraciones (normales) Delgadas
		Osteoblastos		Presente Ausente
		Adipocitos		Escaso Abundante
		Megacariocitos	Número absoluto por mm ² (equivalente a dos celdillas óseas valorables)	0-10 11-20 21-30 31-40 Mayor a 41
		Fibrosis		Si No

		Hemosiderina	Gránulos finos y/o gruesos en campos 40X.	Grado I Grado II Grado III Grado IV ¹⁸
Objetivo N°2				
Reacciones de Inmunohistoquímica	Es una técnica que revela la existencia de distintas proteínas en las muestras de tejidos, las cuales nos permiten conocer no sólo el origen o el linaje de diferentes células, sino también su funcionalismo. ¹⁹			
NGFR o CD271	Marcador de la superficie celular miembro de la familia de factor de necrosis tumoral usado para células estromales mesenquimal multipotencial aisladas de la médula ósea. ²²		Patrón de expresión Citoplasmática /memembrana Localización	Difuso Focal Paratrabecular Vascular (endotelial) Reticular/mesenquimal

<p>CD10 (CALLA)</p>	<p>Anticuerpo conocido como antígeno común de la leucemia Linfoblástica aguda, usado como marcador</p> <p>Linfoblastos B, linfoblastos T, granulocitos, y células epiteliales (glomerular, células de túbulo)</p>		<p>Intensidad</p> <p>Patrón de expresión Citoplasmática /memembrana</p> <p>Localización</p>	<p>Células hematopoyéticas (serie blanca, serie roja y megacariocitos). Mixto</p> <p>1+/3+++ (débil) 2+/3+++ (moderado) 3+/3+++ (fuerte) No valorable</p> <p>Difuso Focal</p> <p>Paratrabecular Vascular (endotelial) Reticular/mesenchimal</p> <p>Células hematopoyéticas (serie blanca,</p>
-------------------------	---	--	---	---

<p>CD 34 (antígeno de células progenitoras hematopoyéticas CD34+)</p>	<p>proximales, células mielopeliteliales, canalículo biliar, neutrófilos, epitelio intestino delgado fetal y fibroblastos normales) ²⁴</p> <p>Anticuerpo de células progenitoras hematopoyéticas y células endoteliales.</p>		<p>Intensidad</p> <p>Patrón de expresión en membrana celular</p> <p>Localización</p>	<p>serie roja y megacariocitos). Mixto</p> <p>1+/3+++ (débil) 2+/3+++ (moderado) 3+/3+++ (fuerte) No valorable</p> <p>Difuso o focal</p> <p>Paratrabecular Vascular (endotelial) Reticular/mesenchimal Células hematopoyéticas (serie blanca, serie roja y megacariocitos). Mixto</p>
---	---	--	--	---

			Intensidad	1+/3+++ (débil) 2+/3+++ (moderado) 3+/3+++ (fuerte) No valorable
--	--	--	-------------------	--

XIII. RESULTADOS

Del total (85 casos) de las biopsias quirúrgicas de médula ósea de pacientes pediátricos post trasplantados de médula ósea estudiadas durante el período de estudio, 11 cumplieron con los criterios de inclusión. Distribuidas de la siguiente manera.

La edad media estudiada fue de 15 años, la edad máxima registrada de 16 años y la mínima de 3 años, con una moda de 16 años y una mediana de 9 años. **(Cuadro N°1).**

El grupo etáreo que prevaleció fue el de 12 -17 años con 55% (6), seguido del rango de edad de 6-11 años 36.36% (4) y de 0-5 años con 9% (1). **(Cuadro N° 2).**

En cuanto al sexo el que prevaleció fue el masculino con 73% (8) y el femenino con 27% (3). **(Cuadro N.º 3).**

De los 11 casos estudiados el 45.45% (5) corresponden al sexo masculino en el rango de edad de 12-17 años, seguido de 6-11 años con 18.18% y 18.18% (2 sexo masculino y 2 sexo femenino), el rango de edad 0-5 años con 0.9% (1) masculino y 12-18 años con 0.9% (1) sexo femenino, no hubieron casos del sexo femenino en el rango de 0-5 años. **(Cuadro N.º 4).**

En relación a la celularidad el 82% (9) presentaron una celularidad del 20-40%, el 9% (1) del 40-60% y 9% (1) del 70-90%, por ultimo ninguno 0% (0) presento celularidad mayor a 90%. **(Cuadro N°5).**

De la relación mieloide-eritroide el 72.72% (8) presentaron una relación de 3:1, y el 27.27% (3) presentaron una relación de 2:1. **(Cuadro N°6).**

Con respecto a la integridad de las trabéculas óseas el 54.54% (6) se observaron normales (sin alteraciones) y de estas todas con presencia de osteoblastos, y el 45.45% (5) con trabéculas óseas delgadas. **(Cuadro N°7).**

De la relación mieloide-eritroide en relación a la edad, se encontró que el 72.72 % (8) tenían relación de 3:1, de estos el 36.36% (4) eran de 6-11 años y el 45.45% (3) de 1:2 respectivamente. **(Cuadro N°8).**

En cuanto a la celularidad y edad, se observó que la celularidad que más prevaleció fue la de 30-40% con 45.45% (5), en las edades de 12-18 años respectivamente, seguido de la celularidad del 40-60% y 70-90% (1 y 1) respectivamente correspondiente al rango de edad de 6-11 años y ninguno con la celularidad mayor a 90%. **(Cuadro N°9).**

En el 100% (11) de los casos no se encontró fibrosis. **(Cuadro N°10).**

De los 11 casos estudiados el 36.36% (4) presentaron hemosiderosis grado I de la OMS, el 27.27% (3) Grado II de la OMS y el 27.27% (3) Grado III OMS y solo el 9.09% (1) hemosiderosis grado IV. **(Cuadro N°11).**

De las reacciones de inmunohistoquímica se encontró que el factor de crecimiento neuronal de baja afinidad (NGFR) o CD271, el cual su patrón de expresión es citoplasmático fue focal en el 72.72% (8) y el 27.27% (3) difuso. **(Cuadro N°12).**

El anticuerpo CD10 (CALLA) el cual su patrón de expresión es citoplasmático fue difuso en el 100% (11). La localización de la expresión del anticuerpo se distribuyó en el 54.54% (6) de forma paratrabecular y 45.45 (5) de forma mixta (Paratrabecular, vascular, reticular/mesenquimal y de membrana en células blásticas mieloides), y la intensidad de expresión fue intensa en el 72.72% (8) y en menor proporción moderado en el 27.27% (3). **(Cuadro N°13).**

El anticuerpo CD34, con patrón de expresión en membrana fue focal en el 54.54% (6) y difuso en 45.45% (5). La localización de la expresión del anticuerpo se distribuyó en 45.45% (5) de forma paratrabecular, 27.27% (3) reticular/mesenquimal y 27.27% (3) de forma mixta (paratrabecular, vascular y reticular/mesenquimal). La intensidad de la expresión fue moderada en 54.54% (6) y 45.45% (5) de forma intensa. **(Cuadro N° 14).**

XIV. DISCUSIÓN

Se estudiaron un total de 11 casos de biopsias de médulas óseas de pacientes pediátricos postrasplantados, con reporte previo de enfermedad hemato oncológica donde se obtuvo que:

Las edades registradas se presentaron con una media de 3 años, la edad máxima registrada de 17 años y la mínima de 3 años, con una moda de 8 años. El grupo etáreo que prevaleció fue el de 12-15 años con 6 casos y la mayoría del sexo masculino. Por lo que no hay diferencias significantes entre las médulas óseas de niños y niñas.

El mayor número de casos tuvieron una celularidad del 20-40%, lo cual no corresponde con la literatura que refleja que la celularidad en edad pediátrica promedio es de aproximadamente del 100% al nacimiento y disminuye en un 1% por año, en neonatos (nacimiento a 28 días del 90%), lactantes (1 mes a 1 años del 80-90%), (2 a 5 años de 60-80%) y mayor de 6 años (50-70%). La relación mieloideritroide en su mayoría presentaron una relación de 1:4 y 3:1, lo cual si se correlaciona con la literatura consultada en donde se describe que el rango normal para la relación M: E es 1,2: 1 a 5: 1. Sin embargo en pacientes postrasplantados se esperarían encontrar cambios hipocelulares y daño estromal.

Más de la cuarta parte de las biopsias de médula ósea presentaron las trabéculas óseas delgadas con la presencia de revestimiento osteoblástico en su minoría, en donde se refiere que pacientes postrasplante de médula ósea en la edad pediátrica el hueso trabecular presenta remodelación activa deficiente.

La literatura refiere que la fibrosis es secundaria a daño estromal y/o asociado a una patología primaria de médula ósea, lo cual no coincide con las biopsias de médula ósea de nuestro estudio.

Las biopsias de médula ósea no están indicadas para determinar almacenamiento de hierro, dado que está ausente durante el primer año de vida y el almacenamiento del hierro progresivamente incrementa y alcanza niveles altos en la edad adulta, sin

embargo en pacientes que se han sometido a múltiples transfusiones sanguíneas existe depósito a nivel de médula ósea lo cual coincide con la literatura ya que en nuestras biopsias la mayoría presentaron cúmulos de hemosiderina observados por tinción de hematoxilina-eosina.

El factor de crecimiento neuronal de baja afinidad (NGFR) o CD271, el cual es un marcador que define un subgrupo de células estromales mesenquimales multipotenciales y puede ser usado para aislar y enriquecer células derivadas de aspirados de médula ósea, tiene la capacidad de diferenciarse en los linajes osteogénico, adipogénico y condrogénico y las segundas también tienen capacidad de diferenciación a linajes mesenquimales y de originar colonias fibroblastoides en cultivos in vitro. En nuestro estudio se encontraron células positivas en su mayoría de manera focal, lo que correlaciona con la literatura ya que posteriormente a una patología primaria de médula ósea se produce un daño al estroma.

En relación al anticuerpo CD10 (CALLA), descrito con patrón de expresión citoplasmático y de membrana, conocido como antígeno común de la leucemia linfoblástica aguda, usado como marcador Linfoblastos B, linfoblastos T, granulocitos, y células epiteliales (glomerular, células de túbulos proximales, células miopelteliales, canalículo biliar, neutrófilos, epitelio intestino delgado fetal y fibroblastos normales). En términos de grado de maduración, los progenitores de células B normales constituyen un grupo heterogéneo de células con una expresión variable, lo que no coincide con la literatura consultada, dado que en nuestro caso la localización de expresión del anticuerpo en su mayoría fue paratrabecular.

CD34 es una proteína codificada por el gen CD34 en los seres humanos, ratones, ratas y otras especies. CD34 deriva su nombre del grupo de protocolos de diferenciación que identifica antígenos de superficie celular, es un anticuerpo de células progenitoras hematopoyéticas y células endoteliales. En nuestro estudio observamos que su expresión en la mayoría de los casos fue de manera focal e intensa, lo que correlaciona con la literatura, ya que se expresaría en células troncales pluripotenciales, y en las biopsias analizadas en nuestro estudio se

esperaría que existiera un proceso de reparación tisular del nicho hematopoyético y encontrar células madre troncales.

XV. CONCLUSIONES

1. Las principales edades de las pacientes estudiadas estuvieron en el rango de 12 a 17 años, la mayoría fueron del sexo masculino, la edad media de 9 años, con edad mínima de 3 años y máxima de 17 años. No hay diferencias significativas entre sexo masculino y femenino.
2. En relación a las características histológicas la celularidad que más prevaleció fue la de 30-40% en las edades de 6-11 años, en ninguno de los casos se encontró fibrosis. El 36.36% se identificó hemosiderosis grado I de la OMS.
3. Las reacciones inmunofenotípicas realizadas fueron el factor de crecimiento neuronal de baja afinidad (NGFR) o CD271, con patrón de expresión citoplasmático y de membrana, en su mayoría focal, con localización en región paratrabecular, vascular, reticular/mesenquimal con intensidad de expresión fuerte.
4. El anticuerpo CD10 (CALLA), descrito con patrón de expresión citoplasmático y de membrana se distribuyó en su mayoría de forma paratrabecular. La intensidad de expresión fue intensa en la mayor numero de casos y en menor proporción moderada.
5. El anticuerpo CD34, con patrón de expresión en membrana en su mayoría se expresó de manera focal. La localización de la expresión del anticuerpo se distribuyó en su mayoría de manera paratrabecular y la intensidad de expresión fue moderada en más de la mitad de los casos.

XVI. BIBLIOGRAFÍA

1. Bryan Anthony, Daniel C. Enlace. Regulation of hematopoietic stem cells by bone marrow stromal. Cell Press 2013 Apr;7(4):333–7.
2. Hanna K. A. Mikkola, Stuart H. Orkin. The journey of developing hematopoietic stem cells. Development 133, 3733-3744 (2006).
3. Abel Sánchez-Aguilera, Simón Méndez-Ferrer. The hematopoietic stem-cell niche in health and leukemia. Cell. Mol. Life Sci. (2017) 74:579–590.
4. Sean J. Morrison, David T. Scadden. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. Nature. 2014 January 16; 505(7483): 327–334
5. Félix Gaytán-Morales. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en Pediatría. Gaceta Mexicana de Oncología. 2013;12(3):174-181
6. Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, Weber JM, Olson DP, Knight MC, et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. Nature. 2003 Oct 23;425(6960):841–6.
7. Sipkins DA, Wei X, Wu JW, Runnels JM, Côté D, Means TK, et al. In vivo imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment. Nature. 2005 Jun 16;435(7044):969–73
8. Nagasawa T, Omatsu Y, Sugiyama T. Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells. Trends Immunol. 2011 Jul;32(7):315–20.
9. Calabrese, Giuffruda, Lo Fumo, MD et al. Potential Effect of CD21 on Human Mesenchymal stromal cell proliferation and differentiation. Int. J Mol sci. 2015 Jul 9,16: 15609-24.
10. Adams GB, Scadden DT. The hematopoietic stem cell in its place. Nat. Immunol. 2006 Apr;7(4):333–7.

11. Diagnostic Pediatric Hematopathology. Maria A. Proytcheva MD. Cambridge University Press. 2011 Seccion 1. Cap. 2. Pág 21-26.
12. Daniel A. Cherry, MD and Tomislav M. Jelic, MD, PhD. Bone marrow a practical manual. Cap. 1 (pag 7,15,20,21,22,24 y 32)
13. Linda M. Ernst MD, Eduardo D. Ruchelli MD, Dale S. Huff MD. Color Atlas of fetal and neonatal Histology. Section VI. Cap. 26 (pág 273-281).
14. Jean W. Keeling, T. Yee Khong. Fetal and Neonatal Pathology. Fourth Edition. Cap 8 y 25. Srpinger 2007
15. Flores-Figueroa E, Varma S, Montgomery K, Greenberg PL, Gratzinger D. Distinctive contact between CD34+ hematopoietic progenitors and CXCL12+ CD271 + mesenchymal stromal cell in benign and myelodysplastic bone marrow. Lab. Invest. 2012; 92 (9): 1330-41.

XVII. ANEXOS

Cuadro N°1: Distribución de casos de biopsias de médulas óseas por edad. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Media	16
Mediana	9
Moda	9
Mínimo	3
Máximo	17

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°2: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por rango de edades. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Edad	Número	Porcentaje
0-5 años	1	9.00%
6-11 años	4	36.36%
12-18 años	6	55%
Total	11	100%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°3: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por sexo. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Sexo	Número	Porcentaje
Masculino	8	73%
Femenino	3	27%
Total	11	100%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°5: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por celularidad. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Celularidad	Número	Porcentaje
Mayor o igual a 20 y menor a 40	9	82%
40-60	1	9%
70-90	1	9%
mayor a 90	0	0%
Total	11	100%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°6: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por relación mieloide-eritroide. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Relación mieloide-eritroide	Número	Porcentaje
1 a 4	0	0.00%
1 a 5	0	0.00%
2 a 1	3	27.27%
3 a 1	8	72.72%
Otra	0	0%
Total	11	100%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°7: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por integridad de trabéculas óseas. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Integridad de trabéculas óseas	Osteoblastos		
	Presente		Asusente
	Número	Porcentaje	
Normales	6	54.54%	0
Delgadas	5	45.45%	3
Total	11	100%	0

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°8: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por relación mieloide-eritroide y edad. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

Relación mieloide-eritroide	Edad							
	0-5 años		6-11 años		12-18 años		Total	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
1 a 4	0	0%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
1 a 5	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
2 a 1	0	0%	0	0.00%	3	27%	3	45.45%
3 a 1	1	9%	4	36.36%	3	27%	8	72.72%
Otra	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Total	1	9.09%	4	36.36%	6	55%	11	100%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°9: Distribución de casos de biopsias de médula ósea por celularidad y edad. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

	Edad							
	0-5 años		6-11 años		12-18 años		Total	
Celularidad	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Mayor o igual a 30 y menor a 40	1	9%	3	27.27%	5	45.45%	9	82%
40-60	0	0.00%	1	9.09%	0	0.00%	1	80%
70-90	0	0%	1	9.09%	0	0%	1	9%
mayor a 90	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Total	1	9.09%	5	45.45%	5	45%	11	100%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°11: Distribución de casos de biopsias de médula ósea con hemosiderina. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

grado	I (36.36%)	II (9.09%)	III (27.27%)	IV (27.27%)
número de c	4	1	3	3

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°12: Distribución de casos de biopsias de médula ósea con reacción de inmunohistoquímica factor de crecimiento neuronal de baja afinidad o CD271. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

ANTICUERPO NGFR (POR SUS SIGLAS EN INGLES DE FACTOR DE CRECIMIENTO NEURONAL DE BAJA AFINIDAD O CD271,			
	NGFR	PORCENTAJE	NUMERO
PATRON DE EXPRESION	DIFUSO	27.27%	3
	FOCAL	72.72%	8
LOCALIZACION	PARATRBEULAR	0%	0
	VASCULAR	0%	0
	RETICULAR/MESENQUIMAL	63.63%	7
	CELULAS (MEGACARIOCITOS)	18.18%	2
	MIXTO	36.36%	4
INTENSIDAD DE EXPRESIÓN	DEBIL	9.09%	1
	MODERADO	81.81%	9
	FUERTE	9%	1

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°13: Distribución de casos de biopsias de médula ósea con reacción de inmunohistoquímica CD10 (CALLA). Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

	CD10	PORCENTAJE	NUMERO
PATRON DE EXPRESION	DIFUSO	100.00%	11
	FOCAL	0.00%	0
LOCALIZACION	PARATRABECULAR	54.54%	6
	VASCULAR	0.00%	0
	RETICULAR/MESENQUIMAL	45.45%	5
	CELULAS (BLASTOS MIELOIDES)	100.00%	11
	MIXTO	45.45%	5
INTENSIDAD DE EXPRESIÓN	DEBIL	0.00%	0
	MODERADO	27.27.00%	3
	FUERTE	72.72%	8
	NO VALORABLE	0.00%	0%

Fuente: solicitud de biopsia

Cuadro N°14: Distribución de casos de biopsias de médula ósea con reacción de inmunohistoquímica CD34. Departamento de anatomía patológica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Enero 2009-2017.

	CD34	PORCENTAJE	NUMERO
PATRON DE EXPRESION	DIFUSO	45.45%	5
	FOCAL	54.54%	6
LOCALIZACION	PARATRABECULAR	45.45%	5
	VASCULAR	0.00%	0
	RETICULAR/MESENQUIMAL	27.27%	3
	MIXTO	27.27%	3
INTENSIDAD DE EXPRESIÓN	DEBIL	0.00%	0
	MODERADO	54.54%	6
	FUERTE	45.45%	5
	NO VALORABLE	0.00%	0%

Fuente: solicitud de biopsia