



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Reconstitución inmune en los
primeros seis meses postrasplante
de células progenitoras
hematopoyéticas en población
pediátrica y su relación con el timo

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

P R E S E N T A:

Dr. Diego Sierra Muñoz

TUTOR:

Dra. Elsy Maureen Navarrete Rodríguez

Dr. Omar Josué Saucedo Ramírez

Dr. José Félix Gaytán Morales



CIUDAD DE MÉXICO

FEBREO 2024





Universidad Nacional
Autónoma de México



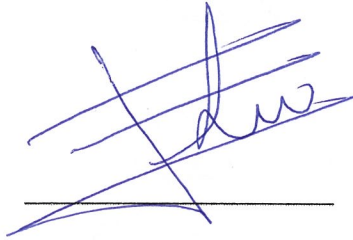
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

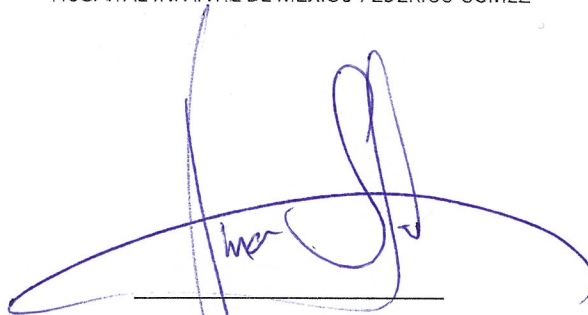
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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


DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



DRA. ELSY MAUREEN NAVARRETE RODRÍGUEZ
MEDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA
PEDIÁTRICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



DR. OMAR JOSUÉ SAUCEDO RAMÍREZ
MEDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA PEDIÁTRICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



DR. JOSÉ FELIX GAYTÁN MORALES
MÉDICO ADSCRITO A LA UNIDAD DE TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS
HEMATOPOYÉTICAS
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEDICATORIA

A Silvia y Rafael, por ser el motor diario para cumplir mis sueños, quienes me enseñaron que el único límite que existe soy yo, por guiarme en cada paso que doy y sostenerme cuando estoy a punto de caer.

AGRADECIMIENTOS

A mis papás, por ser quienes me han permitido continuar con mis sueños, apoyándome en cada paso que doy. A mi mamá, porque siempre he encontrado unos oídos que me escuchen, unas palabras que sanen y un abrazo cuando es necesario. A mi papá, porque siempre encuentra el punto exacto para impulsarme a seguir soñando, hacerme reír en la adversidad y junto con Dorita, encontrar la solución a muchos casos clínicos.

A mis hermanas Jimena y Regina, porque a pesar de tener muchas diferencias, en ellas he encontrado el apoyo siempre que lo necesito, porque han sido mi sostén desde que tengo memoria y siempre buscamos el punto de encuentro para continuar unidos.

A Ximena, por ser mi amiga más longeva, por ser mi apoyo incondicional y estar presente, aunque la distancia y tiempo en ocasiones no lo permita.

A Naomi, por enseñarme que las preocupaciones de un adulto pueden ser banales, que el disfrutar de la sencillez de las cosas son lo que valen la pena, por mostrarme una sonrisa cada que te veo y darme el abrazo más honesto cuando nos encontramos.

A la guardia C, por esas noches de desvelo, por los consensos de expertos a las 03:00am, por las risas compartidas y las preocupaciones divididas; gracias por hacer las guardias más llevaderas.

Al Dr. Ricky Reyes Retana, por impulsarme a elegir la especialidad más bonita de la medicina, por ser mi maestro en muchas ocasiones y sobre todo por ayudarme a seguir creciendo día con día, gracias por ser mí ejemplo para ser un mejor profesionalista.

Al Dr. Omar y al Dr. Félix, por ser mis tutores y acompañarme en este proceso.

A la Dra. Hilda, por apoyarme desde el inicio del proyecto, por siempre mostrarme una sonrisa y estar al pendiente en cada paso de mi proceso de titulación.

Por último, pero no menos importante, a la Dra. Elsy, porque encontramos la forma de sacar adelante el proyecto, por siempre buscar el cómo sí a pesar de los obstáculos que se presentaron durante el proceso, por la paciencia y sobre todo, por confiar en mí en cada paso.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES	9
MARCO TEÓRICO	11
HEMATOPOYESIS	11
HISTOCOMPATIBILIDAD	14
TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS	15
SISTEMA INMUNE	22
ÓRGANOS LINFOIDES	25
TIMO	27
LINFOPOYESIS	30
RECONSTITUCIÓN INMUNE	37
ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED	41
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	46
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	46
DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	47
HIPÓTESIS	47
OBJETIVOS	48
METODOLOGÍA	48
Diseño de estudio	49
Población de estudio	49
Criterios de inclusión	49
Criterios de exclusión	50
Criterios de eliminación	50
Tamaño muestral	50
ANÁLISIS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS	51
RESULTADOS ESPERADOS	52
UTILIDAD Y APLICABILIDAD	53
VALOR SOCIAL Y EN SALUD PÚBLICA	53
CONSIDERACIONES ÉTICAS	54
RESULTADOS	54

DISCUSIÓN.....	69
CONCLUSIONES.....	72
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	78
ANEXOS.....	79

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la terapia celular se ha abierto campo en el tratamiento de muchos padecimientos hematooncológicos, desórdenes inmunológicos primarios y discrasias sanguíneas; debido a que ha demostrado tener una adecuada respuesta celular e inmune en los pacientes que han sido sometidos a estas técnicas terapéuticas en etapas tempranas de la enfermedad.

“El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es un procedimiento en el que las células progenitoras hematopoyéticas son infundidas para restaurar la función de la médula ósea, afectada parcial o completamente por enfermedades propias de la médula ósea o como consecuencia de una alteración secundaria.” (5).

A partir del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas surge el término de reconstitución inmune o inmunológica, la cual se considera la recuperación de número y función de los linajes celulares, así como la recuperación de la respuesta inmunológica.

La reconstrucción inmune es otorgada por el donador debido a que las células y respuesta inmunitaria del receptor son eliminadas casi en su totalidad al recibir quimioterapia y radioterapia pretrasplante.

Por otra parte, existen diversos órganos encargados de la maduración y señalización de células linfocitarias, que al paso de los años o por sometimiento de procedimientos, adquieren o pierden funciones, existiendo un cambio en las características fisiológicas y anatómicas como es el caso del timo.

ANTECEDENTES

En 1940 George Snell y cols. (pioneros en el descubrimiento de los sistemas de antígenos secundario a la observación en cepas de células tumorales en ratones), descubrieron la región H-2, la cual confiere un polimorfismo a los ratones y, si eran compatibles unos con otros no presentaban rechazo celular, mientras que, si presentaban una falta de similitud, presentaban rechazo celular.

Posteriormente y gracias a este descubrimiento, se pudo determinar que existen regiones homólogas en distintas especies de mamíferos, siendo así que, en la década de 1950, el profesor Jean Dausset descubre la presencia de anticuerpos en el suero de multíparas y en pacientes que habían recibido más de una transfusión dirigidos contra las células de membrana de los leucocitos humanos, surgiendo el término de HLA (Antígenos Leucocitarios Humanos, por sus siglas en inglés).

Dausset recibió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1980 en conjunto con Baruj Benacerraf y George Davis Snell. Gracias a estos descubrimientos, se ha podido disminuir la tasa de incidencia en el rechazo a injertos heterólogos, avanzando en las tecnologías y predicción de aceptación/rechazo en materia de trasplantes.

El primer trasplante de médula ósea que tiene registro médico fue realizado en 1939 por Osgood en una mujer que padecía aplasia medular y como tratamiento recibía transfusiones sanguíneas periódicas; fue entonces que inició su protocolo y transfundió células de médula ósea de un hermano, siendo un trasplante fallido.

Posteriormente, Jacobson y colaboradores demostraron que los ratones sometidos a dosis altas de radiación podían recuperar la hematopoyesis normal secundaria a procesos de recuperación esplénica, con lo cual, continuaron sus investigaciones y finalmente concluyeron que la radiación tenía un efecto citotóxico en las células de la médula ósea, con lo cual se provocaba una mejoría en la aceptación de injertos alogénicos.

A finales de la década de los 50's, Donnall Thomas inició la aplicación de estas técnicas en población humana, utilizando trasplantes sinérgicos en pacientes con

leucemia linfoblástica aguda en fases avanzadas, aplicando como preparación pretrasplante radiación corporal, con fracaso posterior por recaídas.

No fue hasta 1968 cuando se llevó por primera vez un trasplante de células precursoras hematopoyéticas provenientes de médula ósea en la Universidad de Minnesota, donde se sometió a un lactante con diagnóstico de inmunodeficiencia severa combinada. Se realizó un trasplante sinérgico de una hermana sana histocompatible. Este avance en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas pudo ser posible gracias al reconocimiento de los HLA.

En 1984, J. Edwin Blalock postuló que existe una utilización compartida de ligandos y receptores de mediadores inmunes y neuroendócrinos, traducándose en la posibilidad de que el sistema inmune actúe como órgano sensorial. Así mismo, se reconoce al del sistema inmune como un órgano periférico, el cual transmite información al cerebro relacionada con una respuesta a estímulos antigénicos. (7)

El término timo proviene de la palabra griega *thymos*, que significa alma o espíritu. Galeno en el siglo II a.C. atribuyó la función del timo a la purificación del sistema nervioso. Versalio en el siglo XV teorizó que tenía la función de amortiguación para proteger los vasos del mediastino que se encontraban posteriores al esternón. En el siglo XVIII no se conocía con exactitud por qué tenía funciones de regulación pulmonar en el período fetal y neonatal, por lo que cual se le atribuyó la característica de ser coadyuvante en la fisiología pulmonar. (12)

En 1777, Hewson identificó al timo como una glándula perteneciente al sistema linfocitario ya que a través de él se podía modificar la linfa. En 1832, Sir Astley Cooper describió la anatomía a través de disecciones cadavéricas.

Hassall y Vanarsdale, en 1846 pudieron determinar a través del microscopio la histología tímica y la diferencia entre otros órganos linfáticos, descubriendo así los corpúsculos de Hassall. Finalmente, en 1961, Miller pudo demostrar la función del timo a través de la timectomía, observando los efectos adversos y complicaciones infectológicas en pacientes sometidos a estas técnicas.

MARCO TEÓRICO

HEMATOPOYESIS

La hematopoyesis es el mecanismo fisiológico responsable de la generación continua de las células de la sangre para mantener “en circulación niveles normales de eritrocitos, leucocitos y plaquetas” (1) y ocurre bajo condiciones muy específicas en la médula ósea donde a su vez, se producen distintos procesos independientes pero simultáneos para la generación de nuevas células sanguíneas, dentro de los cuales se encuentran: la mielopoyesis que va a dar origen a la generación de “granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, eritrocitos y trombocitos” (1) y la linfopoyesis, que dará origen a linfocitos B, linfocitos T y células NK.

En la vida embrionaria la hematopoyesis inicia en el día 16 de gestación principalmente en el saco vitelino, posteriormente toma lugar en el hígado y bazo, para que finalmente sea la médula ósea, en la vida extrauterina, quien se encargue de la mayoría de la producción celular sanguínea, fundamentalmente en el hueso esponjoso o trabecular diafisaria de los huesos planos.

Los sitios con mayor producción de células sanguíneas y, por tanto, con una médula ósea más activa son: pelvis (34%), vértebras (28%), cráneo y mandíbula (13%), costillas y esternón (10%), huesos del brazo (10%) y huesos de las piernas (5%).

El proceso de hematopoyesis presenta varias características que se definen a continuación y que, a su vez, dan origen a las células maduras circulantes que tienen distintas funciones inmunitarias y de transporte dentro del sistema circulatorio.

En primer lugar, se encuentran las células troncales hematopoyéticas (CTH) o *stem cells*, las cuales se localizan dentro de la médula ósea y dan origen a todas las células del sistema inmune. Las características principales y únicas que las hacen distintas al resto del linaje celular son: la capacidad de autorrenovación; es decir, tienen la capacidad de heredar a las células hijas las características iniciales de esta

célula y, por otro lado, son multi o pluripotenciales; con lo cual tienen la capacidad de producir cualquier estirpe celular. Inmunológicamente se pueden diferenciar del resto de las células debido a que “expresan antígenos como CD34, CD90, CD117 y CD133, y que carecen de la expresión de antígenos de linajes específicos, como CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD33, CD38, CD45, CD57, CD71, Glicoforina A” (1)

En segundo lugar y una vez dividida la célula troncal hematopoyética, inicia la producción de las células progenitoras hematopoyéticas, quienes carecen de la capacidad de autorrenovación, pero conservan el potencial proliferativo. Estas pueden producir todas las estirpes celulares (eritrocitos, leucocitos y plaquetas), o bien, únicamente estar restringidas a dos (bipotenciales) o una (monopotenciales). “Comparten ciertas características inmunofenotípicas con las CTH, como la expresión del antígeno CD34, sin embargo, presentan patrones de expresión de marcadores celulares muy particulares, de acuerdo con el linaje al que pertenecen.” (1)

El tercer momento sucede a partir de las células progenitoras, que continúan con el proceso de generación y maduración celular, dando origen a las células precursoras hematopoyéticas, dentro de las cuales, destaca la capacidad de ser detectadas con facilidad dentro del aspirado y biopsia de médula ósea debido a que corresponden al 90% de la población celular medular y, a su vez, pueden ser detectadas en el frotis sanguíneo a pesar de ser células inmaduras.

Finalmente, el cuarto componente corresponde a las células maduras circulantes en el torrente sanguíneo las cuales son: leucocitos y subpoblaciones, eritrocitos y plaquetas.

Por otro lado, y con fines de trasplante, existen diferentes definiciones que si bien, pueden ser “aparentemente” coincidentes, no conllevan la misma connotación debido a que se trata de estirpes celulares que dan origen a todos los órganos y sistemas de la economía humana, dentro de los cuales destacan:

Tabla 1. Estirpes celulares por estadio de maduración y función	
Tipo de célula	Características
Célula madre o <i>stem cell</i>	Al igual que la célula madre hematopoyética, tiene la capacidad de autorrenovación y generación de células especializadas, pero al contrario de la hematopoyética, es capaz de producir “células especializadas que forman diferentes tejidos y órganos”. (2)
Célula madre pluripotente	“Es aquella célula que tiene la capacidad de producir células de todas las capas germinales. Las únicas fuentes conocidas de células pluripotenciales humanas, son aquellas que son separadas y cultivadas de embriones en la primera semana de vida, o del tejido fetal destinado a ser parte de las gónadas”. (2)
Célula madre embrionaria	“Célula que deriva de la masa celular interna, que es parte del embrión de 4 a 5 días, llamado blastocisto”. (2)
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.” (2) Esta célula no tiene capacidad de autorrenovación y está comprometida a la generación de una sola estirpe celular.

El conocimiento de estas estirpes celulares es de suma importancia, ya que como se mencionará más adelante, el tipo de marcador y el proceso de maduración entre cada linaje celular es diferente y a partir de su reconocimiento es posible determinar la función y subpoblación leucocitaria secundaria asociándolo a su marcador de superficie específico.

Es entonces que se puede establecer un control determinado y conteo adecuado de la celularidad, para que (a partir de los marcadores), sea posible conocer la producción de las subpoblaciones y reconstitución celular de los pacientes, con un control previo y posterior al trasplante.

HISTOCOMPATIBILIDAD

El complejo mayor de histocompatibilidad está formado por una serie de genes que producen productos que se expresan en la superficie de las células del sistema inmune.

Es de suma importancia conocer los sistemas de HLA, los cuales se caracterizan por ser una región genética formada por un conjunto de genes polimórficos alineados en una región grande y continua del genoma, localizado en el brazo corto del cromosoma 6, expresados en la superficie de las células nucleadas.

En el sistema HLA existen tres regiones: clase I que codifica las moléculas de histocompatibilidad de clase I, las cuales se encuentran en casi todas las células nucleadas del organismo; es la región más telomérica y codifican las moléculas clásicas HLA A, B y C, así como los genes que codifican moléculas no clásicas HLA E, F, G, H, Y y J.

La región II que codifica las moléculas de histocompatibilidad de clase II, las cuales son glicoproteínas insertadas en las membranas de células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas y células B) y codifican las moléculas HLA DP, DR y DQ; así como las moléculas no clásicas TAP (transportan péptidos al retículo endoplásmico rugoso y facilitan el anclaje a los HLA clase I), LMP (codifican subunidades proteínicas catalíticas que convierten proteosomas estándares en inmunoproteosomas, generando péptidos más eficientes) y DM (codifican una molécula tipo clase II que facilita la carga de péptidos antigénicos hacia moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de la clase II).

Finalmente, la región de clase III que codifica moléculas de características estructurales y funcionales diferentes. Estos antígenos de histocompatibilidad son polimórficos y se heredan como caracteres autosómicos codominantes, es decir, se hereda uno por cada progenitor, teniendo finalmente como resultado dos HLA tipo I, dos HLA tipo II y dos HLA tipo III.

La función principal de los HLA es la unión a péptidos para posteriormente convertirse en presentadores linfocitarios, pudiendo así reconocer lo propio de lo ajeno a través de los linfocitos T. Las características generales, así como las propiedades de las células del complejo mayor de histocompatibilidad son:

- “Complejo de genes relacionados entre sí.
- Se heredan de acuerdo con las leyes de Mendel.
- Presente en el genoma de los vertebrados.
- Codifica para tres familias de moléculas.
- Alto grado de polimorfismo.
- Herencia en haplotipo.
- Moléculas que unen y presentan péptidos al receptor de los linfocitos T.
- Todas las moléculas poseen cuatro segmentos: un segmento de unión a péptido o hendidura, un dominio tipo inmunoglobulina (Ig), un segmento transmembrana y una porción citoplasmática carboxiterminal” (4)

TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS

Para los fines de esta investigación, los tipos de trasplante se clasificarán bajo el siguiente criterio: 1) tipo de donador y 2) fuente de células progenitoras hematopoyéticas.

Tabla 2. Tipos de trasplante por tipo de donador	
Tipo de trasplante	Características
Autólogo	“El paciente actúa como su propio donante, es decir, sus propias células progenitoras hematopoyéticas después de ser extraídas, conservadas y tratadas adecuadamente son reinfundidas como procedimientos de rescate permitiendo el empleo previo de tratamientos de quimio y radioterapia muy intensivos” (3)
Alogénico	<p>“Son obtenidos de un donante que no es el propio paciente y con la mejor compatibilidad posible del HLA codificados por los genes del complejo mayor de histocompatibilidad, sea un familiar o no. Al efecto citotóxico del tratamiento previo de quimioterapia o quimiorradioterapia se añade aquí un efecto inmunológico de injerto contra tumor” (3).</p> <p>En cuanto a este tipo de trasplante existen dos subtipos:</p> <p>Alogénico: Un hermano consanguíneo es el donador y cuenta con un HLA idéntico al receptor.</p> <p>Alogénico parcialmente compatible: cuando existe una histocompatibilidad parcial.</p> <p>Haploidéntico: Tipo de trasplante alogénico parcialmente compatible donde la “incompatibilidad se ha tratado de disminuir realizando una depleción selectiva de linfocitos T del donador” (2)</p>
Sinérgico	“El donante es un hermano gemelo univitelino (homocigoto) y por tanto con HLA idéntico” (3)

Tipos de trasplante

Los tipos de trasplante pueden dividirse en de acuerdo con su origen, el cual puede ser: cordón umbilical, sangre periférica y médula ósea.

Cordón umbilical

Para poder realizar este tipo de trasplante, es necesario conocer la clasificación y clases de HLA I y II principalmente. Tienen que ser compatibles y tomar con mayor atención las subclases HLA A, B y DR. La muestra se toma de cualquiera de los tres vasos que irrigan al cordón umbilical y se puede realizar la técnica intra o extrauterina.

Con el fin de contar con un mayor número de células es necesario un pinzamiento cercano al recién nacido para tener mayor longitud y volumen obtenido tanto del cordón umbilical como de la placenta, con consecuente aumento en la recolección de células madre. La punción se debe realizar lo más distal a la placenta y permitir el flujo de sangre por gravedad hacia la bolsa recolectora. El volumen sanguíneo, la cuenta total de células nucleadas y el total de células CD34+ se encuentran en mayor cantidad si se realiza la extracción fuera del útero. Por otro lado, el número de unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos se encontrarán en mayor cantidad si se realiza una extracción in útero.

Diferencias celulares entre la muestra de cordón umbilical vs sangre periférica y médula ósea:

Disminución de: “expresión de MnRA, producción de proteína de factor estimulante de colonias de granulocitos, IL-3, factor transformador de crecimiento B-1, IL-1, IL-15 e IL-18.” (2). Tiene un número disminuido de CD 4, CD 8 y CD 3+, pero una alta relación CD4/CD8 comparado con la sangre periférica. La relación CD4/CD45 es menor y la respuesta a la estimulación es reducida.

Otras estipes celulares, factores y funciones que se encuentran disminuidos son: Factor de necrosis tumoral alfa; interferón alfa; factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF por sus siglas en inglés); factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF por sus siglas en inglés); factor estimulante de colonias de megacariocitos (M-CSF por sus siglas en inglés); células T CD3, CD4, CD8; CD45 RO+; células T secundarias; citotoxicidad aloantígeno; inmadurez de la función de las células B; actividad de los *natural killers* (NK), función CD.

Aumento en la producción de: la proteína que produce IL-11, factor *stem cell*, trombopoyetina y CD 45RA+. Tienen una mayor expresión de células dendríticas, reduciendo la incidencia de enfermedad de injerto contra huésped.

Función, factor y celularidad normales: Tienen un número normal de células B, pero tienen un fenotipo inmaduro (CD5 y CD19+); células T primarias; número de células NK, inmunofenotipo CD.

Debido a la pobre función de las células obtenidas por esta técnica y el retardo en el crecimiento y maduración celular observada en dos estudios (Wagner y cols. Y Eurocord Experience), se ha demostrado que, a pesar de ser una opción viable en trasplantes, no es aquella que se prefiere de primera instancia en enfermedades malignas, pero se puede utilizar como primera opción en hemoglobinopatías debido a que tienen una supervivencia del trasplante alrededor del 100% a los dos años. Así mismo, no se prefiere como primera instancia ya que la recolección de las células madre debe realizarse en etapas muy tempranas de la vida y encontrar haplotipos idénticos o *missmatched* es altamente difícil con poca oportunidad de planeación de este a pesar de la existencia de técnicas de criopreservación.

Sangre periférica

Se encuentran en menor cantidad comparada con la celularidad encontrada en la médula ósea en un porcentaje que varía entre el 1-10%.

Ventajas sobre trasplante de médula ósea: colección fácil, rápida y menor costo sin requerimiento de preparación prequirúrgica y sometimiento a anestesia lo que provee al donador una técnica más segura y eficiente de recolección; aplicable a pacientes con enfermedad relacionada a alteraciones de la médula ósea o antecedente de radiación en región pélvica; menor periodo de citopenias posterior a mieloablación y menor incidencia de infecciones.

En cuanto a la celularidad, no se ha demostrado si hay una disminución o aumento del conteo celular tumoral ni diferencias en la tasa de recaídas.

Al igual que la sangre obtenida del cordón umbilical, presentan un mayor número de antígenos CD45, CD33 y CD71 comparado con la celularidad de la médula ósea, pero presentan una menor expresividad de antígenos CD34+, representando un 10% de las encontradas en médula ósea.

Se ha demostrado que el injerto de neutrófilos y plaquetas es más temprano que el resto de las modalidades de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, así como una disminución en el tiempo de hospitalización y menor requerimiento de antibióticos, con una consecuente disminución de costos. Así mismo, existen estudios realizados por Faulkner y cols., donde se demuestra una disminución de la concentración y aumento de la depuración de factor estimulante de colonias de granulocitos relacionada al aumento de concentración neutrofílica total, lo que se relaciona a un mecanismo de autorregulación secundaria a la unión de receptores en los neutrófilos; es decir, la concentración de factor estimulante de colonias de granulocitos es inversamente proporcional a la cantidad de neutrófilos circulantes, tomándose en cuenta como factor predictivo dentro de la reconstitución celular.

Médula ósea

“Las células madre de la médula ósea se obtienen mediante múltiples punciones en ambas crestas ilíacas posteriores. Estas punciones se efectúan bajo anestesia general, aunque en algunos casos pueden realizarse bajo anestesia epidural.” (5)

Al ser la médula ósea el órgano progenitor de células hematopoyéticas por excelencia en el periodo postnatal, se considera que cuenta con todas las estirpes celulares inmaduras, lo cual se traduce en que las células sanguíneas que son obtenidas son aquellas que inician el proceso de hematopoyesis.

Fases del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Acondicionamiento

“Es el proceso mediante el cual se prepara a un paciente candidato a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Existen diferentes regímenes de acondicionamiento que pueden incluir quimioterapia, terapia de anticuerpos monoclonales y radiación dirigida. Ayuda a preparar a la médula ósea del paciente para que permita el crecimiento de nuevas células madre sanguíneas, ayuda a impedir que el cuerpo del paciente rechace las células trasplantadas y ayuda a destruir las células neoplásicas.” (25)

Existen diferentes esquemas de acondicionamiento, los cuales pueden clasificarse dependiendo de su nivel de mielosupresión, los cuales se definen en la siguiente tabla:

Tabla 3. Regímenes de acondicionamiento en el TCPH	
Acondicionamiento mieloablativo	Utiliza radioterapia o alquilantes que no permiten recuperación autóloga de la hematopoyesis del hospedero. Necesitará la infusión de células progenitoras de un donador para prevenir la muerte relacionada con aplasia medular. Los regímenes más frecuentes son busulfán + ciclofosfamida, o bien, ciclofosfamida + irradiación corporal total.
Acondicionamiento no mieloablativo	Es aquel que provocará depleción del sistema inmune. No necesariamente se requiere infusión de células progenitoras para lograr la recuperación medular, sin embargo, la inmunosupresión será suficiente para lograr el injerto. Ejemplos frecuentes son esquemas de timoglobulina, fludarabina o irradiación corporal total.
Acondicionamiento de intensidad reducida	De intensidad y tiempo de recuperación variable; puede o no requerirse la infusión de células progenitoras como rescate.
De: Olguín, M.J. (2022). <i>Factores de riesgo asociados a la presencia de infección y recurrencia por citomegalovirus en pacientes pediátricos postrasplantados de células progenitoras hematopoyéticas</i> . Ciudad de México: Tesis para obtener el título de especialista en infectología, Universidad Nacional Autónoma de México y Hospital Infantil de México "Dr. Federico Gómez".	

Fases del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Fase 1: Quimioterapia. Es aquella que va desde la aplicación del esquema de acondicionamiento hasta el día de la infusión de células progenitoras hematopoyéticas.

Fase 2: Citopénica. Inicia con la infusión de células progenitoras y termina con el injerto de las células del donador.

Fase 3: Recuperación temprana. Inicia con el injerto de neutrófilos y termina al día +30 del trasplante. Fase de mayor riesgo para presentar enfermedad de injerto contra huésped aguda.

Fase 4: Convalecencia temprana. Inicia en el día +30 hasta el primer año postrasplante. Existe inmunodeficiencia. Termina al tener subpoblaciones linfocitarias normales.

Fase 5: Convalecencia tardía. Se caracteriza por la reconstitución inmune del receptor, aparición o cronicidad de la enfermedad de injerto contra huésped y complicaciones a largo plazo. Inicia en el día +365. (15)

SISTEMA INMUNE

En el sistema inmunitario existen diversos procesos de maduración y señalización celular, lo cual provee a cada célula una función específica que lleva a la autorregulación, reconocimiento y defensa contra antígenos pudiendo con ello tener una adecuada respuesta ante agentes propios o externos, mediados por apoptosis, activación de mastocitos y señalización linfocitaria de defensa entre otros.

Para su estudio el sistema inmune puede dividirse en diversas categorías dependiendo de su respuesta y adquisición de funciones frente a estímulos.

Sistema innato o natural

Consta de una serie de respuestas que acompañan al individuo desde el nacimiento y lo capacita para responder ante cualquier elemento nocivo. Dentro de sus mecanismos de defensa se encuentran las barreras anatómicas como lo son: piel, mucosas y células; elementos químicos como proteínas, enzimas y citocinas y elementos biológicos como el microbiota intestinal. Así mismo, intervienen algunos mecanismos de inflamación, fagocitosis y complemento.

Características principales de la respuesta del sistema innato: Se presenta desde el nacimiento, es espontánea; es decir, puede actuar ante cualquier patógeno inclusive si nunca ha tenido contacto con este; es inmediata; posee poca capacidad de memoria y es poco específica debido a que posee un “número limitado de reconocimiento de patrones, útiles para detectar integrantes estructurales denominados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, por sus siglas en inglés), así como moléculas de células dañadas del hospedero (DAMP, por sus siglas en inglés).” (7)

Sistema inmune adaptativo, específico o adquirido

Es aquel que inicia su respuesta posterior a la estimulación de linfocitos a través de citocinas y activación por presentación de antígenos por la inmunidad innata.

Características principales de la respuesta del sistema inmune adaptativo: Es específica, es decir, puede reconocer a los diferentes patógenos de una misma familia por la presencia de antígenos; tiene memoria, lo que le proporciona la capacidad de actuar ante estímulos repetidos con mayor velocidad; es autolimitada, es decir, “la entrada de un mismo antígeno por segunda o tercera vez aumenta la respuesta, pero estímulos subsecuentes no la amplifican significativamente” (7); es

inducible a través del ingreso o adquisición de elementos nocivos y finalmente es transferible entre individuos.

A su vez, el sistema inmune adaptativo se subdivide por el tipo de respuesta en inmunidad celular e inmunidad humoral.

Inmunidad celular

“La inmunidad celular actúa contra gérmenes intracelulares, instalados en fagocitos y otras células del hospedero. Las células Th promueven la eliminación y las Tc destruyen directamente las células portadoras de microorganismos” (7).

La principal célula involucrada es el linfocito T. La respuesta en este tipo de inmunidad es independiente del antígeno presentado. La respuesta es a través de la secreción de citotoxinas y la inducción de apoptosis, mediante los linfocitos T citotóxicos (TCD8). Es importante destacar que estos linfocitos tienen la capacidad de producir citocinas, pero en menor cantidad.

Si su respuesta ante el antígeno presentado corresponde a la inducción de citocinas, se denomina linfocito T de ayuda, cooperador o *helper* (TCD4). Los linfocitos TCD4 expresan el ligando CD40 (CD154), secretando citocinas que se unen a los macrófagos y linfocitos B, con lo cual los activan. Así mismo, los linfocitos T estimulan la proliferación y diferenciación propia de los linfocitos T.

Inmunidad humoral

La inmunidad humoral es el principal mecanismo de defensa contra patógenos extracelulares y su respuesta está mediada principalmente por la producción de anticuerpos por los linfocitos B. La respuesta se desencadena a partir del estímulo por antígenos con la consiguiente transformación de los linfocitos B en células

plasmáticas, quienes adquirirán la función para producir anticuerpos e inmunoglobulinas.

Los anticuerpos secretados se unen a los patógenos extracelulares y a través de la fagocitosis los elimina de la circulación. A su vez produce citocinas inflamatorias con lo que potencia las respuestas ante patógenos externos.

En este proceso los linfocitos T tienen la función de ayudar a la transformación de los linfocitos B hacia células plasmáticas y ayuda a la maduración de éstos para una mejor producción de anticuerpos.

Por otro lado, las inmunoglobulinas producidas durante la respuesta humoral orientan al proceso infeccioso que se está llevando a cabo en ese momento. Es así como las IgM son las primeras en producirse en el proceso agudo ante un patógeno nuevo para que posteriormente sea reconocida por las IgG quienes crearán memoria a largo plazo contra el patógeno estimulador de la respuesta; con lo cual se podrá crear una respuesta mediata a través de citocinas y anticuerpos producidas previamente por las IgM con un período de respuesta más corto.

ÓRGANOS LINFOIDES

El sistema inmune se caracteriza por presentar dentro del organismo diferentes respuestas, las cuales son producidas dentro de diferentes órganos y tejidos. Es así como existen tejidos especializados del sistema inmune los cuales en conjunto se integran como órganos linfoides. “En ellos, los linfocitos se generan, maduran y recirculan.” (9)

La producción de todas las series linfocitarias se lleva a cabo en la médula ósea, derivando de las CTH (CD34+). La formación de los linfocitos B y T inicia en la etapa fetal y sus principales productores son inicialmente el saco vitelino, sustituyendo posteriormente su función en el hígado y finalmente inicia la producción intrauterina en la médula ósea. En la etapa adulta, la función hepática es reemplazada casi en

su totalidad por la médula ósea. Los linfocitos T llevan a cabo su maduración en el timo.

Los órganos linfoides dependiendo de la función que desempeñen, pueden dividirse en primarios y secundarios:

- a) Órganos linfoides primarios o centrales: médula ósea y timo.
 - Se encargan de la producción y maduración de los linfocitos.
 - Tienen como característica principal la función de tolerancia, que consiste en la adquisición y capacidad linfocitaria para reconocer los elementos propios, creando una aceptación en el organismo y preservación de los linfocitos. Tienen así mismo, dos mecanismos de selección negativa, que se encarga de eliminar los linfocitos producidos que tienen la capacidad de infligir un daño al organismo. Otro proceso que llevan a cabo es la selección positiva, teniendo como resultado el reconocimiento y tolerancia de los constituyentes del propio organismo y son capaces de actuar contra elementos no propios.

- b) Órganos linfoides secundarios o periféricos: nódulos linfáticos, bazo, amígdalas, tejido linfoide especializado como MALT, GALT entre otros y folículos linfoides.
 - Son estructuras especializadas en la recolección de antígenos de distintos compartimentos anatómicos. En estos sitios se lleva “la activación de linfocitos maduros a través de la presentación o contacto con el antígeno, dando entrada a la respuesta inmune específica, con la consiguiente proliferación clonal y generación de células de memoria.” (9)

- Existen localizaciones específicas para la producción y maduración de los linfocitos en cada órgano linfoide, los cuales dependen del tipo celular correspondiente:
 - o Linfocitos B: Folículos linfoides
 - o Linfocitos T: Áreas interfoliculares

- Así mismo, existen “células no linfoides (células dendríticas, monocitos/macrófagos, células endoteliales, pericitos, fibroblastos y células dendríticas foliculares)” (13) que constituyen el microambiente necesario para producir las interacciones celulares para la generación de respuesta inmune.

TIMO

El timo es un órgano linfo-epitelial que deriva de la porción ventral de las 3ª y 4ª bolsas faríngeas, las cuales derivan de las tres capas germinales. En el feto, tiene un peso aproximado de 10 a 15 gramos y en la pubertad alcanza de 30 a 40 gramos. Involuciona después de la adolescencia y en el adulto tiene un peso aproximado de 6 gramos. Se encarga de la producción de linfocitos T, hormonas y citocinas reguladoras de la diferenciación de linfocitos T dentro de sí mismo y en la periferia.

Anatómicamente se encuentra en el mediastino anterior y está formado por dos lóbulos conectados por un istmo. Histológicamente es un órgano grueso que está rodeado por una cápsula de tejido conectivo laxo, el cual emite prolongaciones que se internalizan y dividen cada uno de sus lóbulos en lobulillos por tabiques fibrosos y se organizan en dos compartimentos: corteza y médula.

Corteza del timo

“Se encuentra compuesta por linfocitos pequeños empaquetados (timocitos) y entre estos, escasas células epiteliales (corticales) y mesenquimales.” (12). Los timocitos inicialmente se encuentran con marcadores CD44, CD2 y CD3, pero no expresan CD4 y CD8, por lo cual se les conoce como células doble negativas. Se encuentran rodeadas de células nodriza provenientes de la corteza, las cuales expresan HLA de clase I y II y marcadores neuroendócrinos. Las células nodrizas “interactúan con los timocitos a través de prolongaciones citoplasmáticas y secretando hormonas propias del timo (timosina, timopoyetina, timulina y factor tímico sérico) y citocinas (IL-6 y 7), que favorecen su maduración.” (9).

Las células epiteliales reticulares forman una malla a través de la cual puede viajar el timocito para llegar a la médula, en donde interactúa con macrófagos y fibroblastos y adquieren las moléculas CD4 y CD8.

Médula del timo

Está constituido por células epiteliales y una escasa cantidad de timocitos que llegan a incorporarse en su trayecto desde la corteza. Las células epiteliales constituyen el esqueleto del timo y son esenciales para el proceso de maduración de los timocitos. Contienen corpúsculos de Hassall que son células epiteliales (o reticuloendoteliales) maduras queratinizantes que se encargan de la maduración de los linfocitos T y son productoras de células CD4CD25+.

Involución del timo

La involución tímica inicia durante la pubertad y se concluye al final de la sexta década de la vida. Característicamente en adultos se encuentra un tejido graso que sustituye al tejido linfoide.

En este cambio de tejidos, disminuye su tamaño, peso y función como resultado de la influencia de las hormonas sexuales circulantes durante la pubertad y vida adulta, así como la disminución paulatina del número de células precursoras provenientes de la médula ósea y los cambios microambientales que disminuyen la proliferación celular en el timo. Funcionalmente tiene repercusión en el mantenimiento del conteo celular de linfocitos T *naive* o vírgenes, provocando el acortamiento de telómeros, disminución de los receptores de la célula T, disminución en la producción de IL-2 y deficiencias en la diferenciación y proliferación hacia células efectoras. (12)

Otros cambios que se han observado como consecuencia de la involución del timo son: reducción total del número de linfocitos T vírgenes con fenotipo “CD45RA+, CD62L+, CD27+, CD28+ y CD11a+, por disminución en la timopoyesis” (12), así como un incremento en el número de linfocitos T de memoria. Estos cambios tienen repercusión en la respuesta inmunológica debido a que se reduce el número total de linfocitos T circulantes, lo cual puede favorecer a una respuesta limitada ante nuevos antígenos.

“Por otro lado, el número de protimocitos en la médula no parece variar con la edad, aunque sí sufren un proceso madurativo diferente. Así, el conjunto de precursores doble negativos, que expresan CD44, pero no CD25, no está alterado con la edad. Sin embargo, su progenie inmediata (CD44+/CD25+, CD44-/CD25+, CD44-/CD25) sufre una declinación con el envejecimiento.” (12). Estos cambios, por consiguiente, afectan directamente la respuesta y función de los linfocitos B secundario a una disminución en la población de linfocitos T cooperadores, dando como resultado una deficiente respuesta de anticuerpos y un incremento en la producción de autoanticuerpos.

LINFOPOYESIS

Dentro de la hematopoyesis, existen diversos pasos que ayudan a la diferenciación celular para determinar el linaje final de las células producidas. Este proceso se lleva a través de diferentes marcadores, citocinas e inmunoglobulinas que determinaran la diferenciación y función final. A partir de las células progenitoras hematopoyéticas con capacidad de autorrenovación, existen dos estirpes celulares: CD34+ (con capacidad de autorrenovación a largo plazo) y CD34+/CD38+ (con capacidad de autorrenovación a corto plazo), las cuales en el proceso de “maduración adquieren en el cordón umbilical los marcadores de superficie CD34+/CD7+ que le dan la capacidad de diferenciación hacia linfocitos B, *natural killers*, células dendríticas y probablemente linfocitos T que migran desde el timo.” (16); de no presentar estos marcadores de superficie, las células progenitoras hematopoyéticas podrían diferenciarse en cualquier estirpe celular de la línea sanguínea.

Para la producción del linaje celular de linfocitos B, se requieren factores de transcripción específicos como lo son Ebf1 y Pax5, así como la supresión del ligando Notch; de lo contrario, se produce la migración de las células hacia el timo, donde las células estromales expresan ligandos activadores de señalización Notch, pudiendo lograr la diferenciación hacia linfocitos T.

Linfocitos B

Al igual que el resto de las células provenientes de la hematopoyesis, los linfocitos B tienen su primer origen en la vida embrionaria, principalmente en el hígado, para posteriormente generarse en la médula ósea. Los linfocitos B siguen una serie de pasos de maduración que principalmente se centran en la expresión de la inmunoglobulina de superficie, para así poder ser reconocidos e iniciar la migración de la médula ósea a órganos linfoides secundarios para su maduración y adquisición de funciones.

Los linfocitos B para poder ser reconocidos como estos, necesitan de la expresión de inmunoglobulinas, las cuales contienen cadenas pesadas μ , ϵ , α , β , γ , o δ con uniones disulfuro a cadenas ligeras κ o λ . “Así mismo, estas inmunoglobulinas contienen moléculas de señalización Ig α (dC79a) e Ig β (CD79b), con lo cual adquieren la capacidad de receptor de células B (BCR por sus siglas en inglés).” (16). Existen dos fases de maduración de linfocitos B, las cuales se reconocen dependiendo del periodo de vida. En la etapa preconcepcional se reconoce el periodo de diferenciación independiente de antígenos, la cual se lleva a cabo en el hígado y médula ósea (fetal y adulta); mientras que la fase antígeno dependiente se lleva a cabo en los órganos linfoides secundarios como lo son el bazo y nódulos linfáticos.

La primera etapa en la maduración de linfocitos B es la fase de célula progenitora B o célula pre-pro-B, posteriormente sigue la fase de células pro-B (los cuales carecen de cadenas pesadas μ , así como BCR), continua el proceso de maduración hacia células pre-B, linfocitos B inmaduros y finalmente la producción de linfocitos B maduros. No es hasta que llega a la fase de células pre-B cuando las células continúan el camino de maduración únicamente hacia linfocitos B; ya que “en la etapa de desarrollo de las células pro-B, el compromiso del linaje no está completo, ya que estas células pueden "reprogramarse" a lo largo de una vía diferente mediante combinaciones de citoquinas y señales extracelulares. Como ejemplo, las células progenitoras B se convierten en células dendríticas cuando se cultivan con IL-1beta, IL-3 e IL-7, factor de necrosis tumoral, factor de células madre y ligando Flt-3.” (13).

Los linfocitos B son aquellos que se encargan de la inmunidad humoral; su origen se encuentra en la médula ósea del ser humano y su función principal es actuar en contra de gérmenes extracelulares. Existen diferentes subgrupos que tienen funciones específicas:

Tabla 4. Linfocitos B. Subtipos y características principales				
Linfocitos	B1	B (IRA)	B2	BR
Predominio	Fetal	Posnatal	Posnatal	Posnatal
Adulto (%)	5	Desconocido	95	5
Distribución	Peritoneo ++ Sangre ++	Bazo	Órganos linfoides +++ Sangre +	Sangre
Marcadores	CD27+CD5+ / CD5 -	IgM, CD43	IgM, IgD, CD20	CD24
Producción	IgM “naturales”	IgM “natural”, IL-3	IgA, D, E, G, M “específicas”; citocinas	TGFβ, IL-10 (subgrupo B10)
De: Vega. (2014). <i>Inmunología básica y su correlación clínica</i> . México: Panamericana. Cap 12 Linfocitos. Pág: 112				

Linfocitos T

El desarrollo de los linfocitos T puede apreciarse desde la semana 7-8 en el hígado embrionario. “Una de las características que diferencian el desarrollo de los linfocitos B con los linfocitos T es el requerimiento de la migración de los linfocitos T hacia un órgano primario para su maduración (timo)”. (16).

Otra de las características fundamentales en la función de los linfocitos T es el reconocimiento de antígenos a través del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés); lo que “modifica la maduración de células T progenitoras en el timo y la activación de células T en la periferia” (17).

Dentro de la semana 8 a 9 en el periodo embrionario, inicia la migración de los linfocitos T hacia el timo, iniciando una serie de reordenamientos de los genes para el receptor de células T (TCR, por sus siglas en inglés). En el timo, los timocitos

prolifera y se diferencia para poder generar células T maduras a través de diferentes vías:

- **Selección positiva:** “Permite la supervivencia sólo de aquellas células T cuyos TCR son capaces de reconocer moléculas MHC propias. Por consiguiente, tienen a su cargo la creación de células T restringidas a MHC.” (18). Se lleva a cabo en la corteza del timo e incluye la interacción de timocitos inmaduros con las células epiteliales de la corteza. Durante esta fase continua la expresión de proteínas RAG-1, RAG-2 y TdT necesarias para el reordenamiento y modificación genética. En este punto los timocitos inmaduros se dividen en una clona que expresa cadena β que tiene la capacidad de reordenar genes de la cadena α de TCR, con lo cual se seleccionan para reconocimiento de MHC propio. Las únicas células que continúan con el proceso de maduración son aquellas que expresan TCR con heterodímero $\alpha\beta$.
- **Selección negativa:** “Elimina las células T que reaccionan demasiado intenso con el MHC propio o con MHC propio más péptidos propios.” (17). Este paso es posterior a la selección positiva e “incluye células cuyos receptores de alta y baja afinidades para antígeno propio presentado por moléculas MHC propias.” (17). En este paso, los timocitos que presenten alta afinidad son eliminados por una interacción con células estromales del timo.

El desarrollo de las células T inicia con la migración de estas hacia el timo, donde se llevará a cabo la proliferación, diferenciación y procesos de selección para su maduración, para luego ser liberadas al torrente sanguíneo y puedan llevar a cabo sus funciones. Por otro lado, como ya se mencionó, existen estudios donde se demuestra que no es condición necesaria la presencia del timo para la maduración de los timocitos, es decir, que existe una vía alterna en estudio que requiere de la

expresión del gen Notch para la diferenciación de esta estirpe celular (J. C. Zuniga-Pflucker et al, 2002).

Al llegar los linfocitos T al timo aún se consideran como células inmaduras ya que no cuentan con la expresión de marcadores o antígenos de superficie, con lo cual, se determinará la vía de maduración para la generación de las subpoblaciones celulares. Esto se crea a partir del reordenamiento de TCR y la expresión de proteínas RAG-1 y RAG-2.

Los TCR son codificados por segmentos de genes (V, D, J y C) que guían el reordenamiento durante el desarrollo de los linfocitos T. Una vez formados los TCR, expresan proteínas α , β , γ , y δ ; las cuales se reordenan con un TCR covalente TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$ respectivamente para iniciar con la expresión del complejo CD3. (16).

Durante esta etapa, las células no expresan antígenos de superficie CD4 y CD8, por lo cual se denominan doblemente negativas, pero pueden expresar en la superficie “c-Kit, receptor de factor de crecimiento de células madre; CD44, molécula de adhesión y CD25, cadena α del receptor de IL-1.” (17). Estas células doblemente negativas son capaces de dar origen a cualquier subpoblación de linfocitos T, se identifican por ser c-Kit+/CD44+/CD25-, conocidas con el nombre de DN1. Una vez que las células migran al timo, inicia la expresión de CD25 y disminuyendo la expresión de CD44, convirtiéndose en células de tipo DN2. Es en esta fase cuando inicia el reordenamiento de los genes TCR. El complejo de timocitos CD34+/CD1a+ (pre-T) contiene TCR γ y δ con genes de TCR β , pero no TCR α , con lo cual inicia la fase de DN3; a medida que va progresando la fase DN3, se pierde la expresividad de CD44 y c-Kit, continuando con la generación de TCR γ , β y δ . Una vez finalizado el reordenamiento de la cadena β , pasan a DN4, y disminuye la concentración CD25, con lo cual inicia la expresión de los correceptores CD4 y CD8, iniciando la etapa de células doblemente positivas.

Hasta este punto, no existe la generación de TCR α . Esta inicia hasta que los timocitos doblemente positivos dejen de proliferar y aumenten las concentraciones de RAG-2. “Los timocitos doblemente positivos que expresan el complejo TCR $\alpha\beta$ -

CD3 y sobreviven a la selección tímica se convierten en timocitos CD4+ unipositivos o timocitos CD8+ unipositivos inmaduros. Estas células unipositivas sufren una selección negativa adicional y migran de la corteza a la médula, en donde pasan del timo al sistema circulatorio” (17). Posterior a ello inician los procesos de selección positiva y negativa descritos previamente.

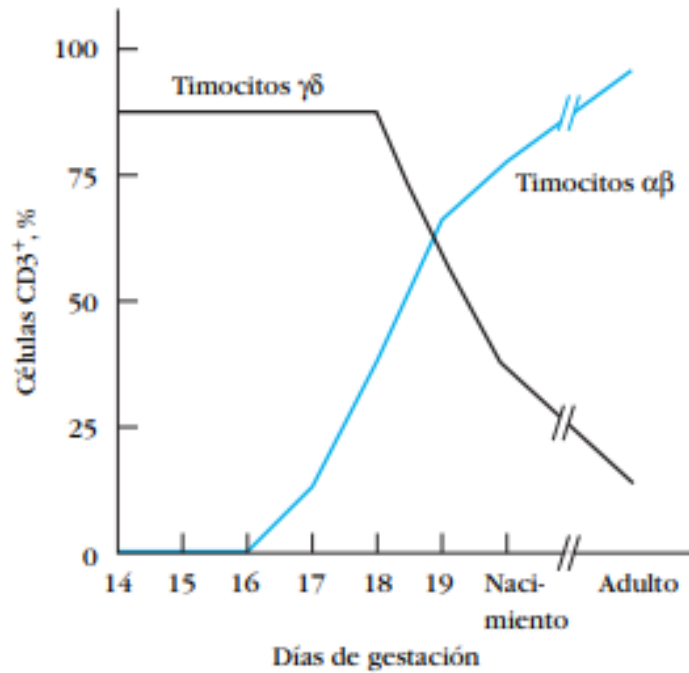


Figura 1: Evolución temporal de la aparición de timocitos $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$ durante el desarrollo fetal del ratón. La gráfica muestra el porcentaje de células CD3+ en el timo que son doblemente negativas (CD4-CD8-) y portan el receptor de célula $\gamma\delta$ (negro) o doblemente positivas (CD4+CD8+) y portan el receptor de célula T $\alpha\beta$ (azul). De: Kindt, T.J.; Goldsby, R.A. & Osborne, B.A. (2003). *Inmunología de Kuby*. Sexta edición. México: McGrawHill. Cap 10 Maduración, activación y diferenciación de la célula T. P: 248

Dentro de los subgrupos de linfocitos T existen diversos tipos que ejercen funciones específicas y pueden ser detectados a través de sus marcadores de superficie, los cuales se describen en las siguientes tablas:

Tabla 5. Linfocitos T		
Linfocito	Abreviatura	Marcador
T cooperador	Th	CD4+
T regulador-supresor	Tr	CD4+CD25+FoxP3
T intraepitelial	T $\gamma\delta$	CD4-CD8-; CD8+
T citotóxico	Tc	CD8+
Natural killer	NK	CD16+,CD56+
Natural killer T	NKT	CD4-;CD4+;CD56+

De: Vega. (2014). *Inmunología básica y su correlación clínica*. México: Panamericana. Cap 12 Linfocitos. Pág: 111

Tabla 6. Linfocitos Th. Subgrupos y características principales		
Célula	Citocinas que produce	Función predominante
Th1	IL-2, IFN γ , TNF	Inmunidad celular
Th2	IL-4, 5, 6, 9, 10, 13	Inmunidad humoral
Th3	TGF β	Tolerancia
Th17	IL-17, 2, 21, 22	Microbicida, proinflamatoria

De: Vega. (2014). *Inmunología básica y su correlación clínica*. México: Panamericana. Cap 12 Linfocitos. Pág: 114

Natural killers

“Las células *natural killer* (NK) se generan a partir de un precursor linfoide proveniente de células progenitoras de médula ósea. Su morfología es similar a la de los linfocitos T y B, pero son profusamente granuladas y se identifican por la ausencia de CD3 (molécula exclusiva de los linfocitos T) y la expresión de CD16 y CD56 (más de 90 % de las células NK en sangre periférica expresan ambas), si bien existen subpoblaciones con los fenotipos CD16⁻ CD56⁺ y CD16⁺ CD56⁻, que constituyen entre 5 y 10 % del total de este tipo de células. Las NK son la primera barrera de defensa contra los patógenos (principalmente virus) y las células tumorales. Su activación e inhibición acontece tras el reconocimiento de alelos del HLA a través de receptores similares a las inmunoglobulinas que inhiben a las células asesinas, los cuales pueden interactuar con un único alelo del HLA o con varios.” (21)

RECONSTITUCIÓN INMUNE

La reconstitución inmune se conoce como aquel proceso posterior al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en el cual se recuperan los linajes celulares a partir de una fuente propia (autólogo) o externa (heterólogo).

Existen múltiples factores que intervienen en una adecuada reconstitución inmune: edad del paciente, protocolo de acondicionamiento utilizado (mieloablación), cantidad de radiación o ausencia de esta, profilaxis antibiótica, estimuladores de colonias, etc.; así como el origen de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH).

Dentro de la reconstitución inmune existen una serie de fases en las cuales se van recuperando paulatinamente los linajes celulares. Inicialmente se recupera la inmunidad innata y finalmente la adaptativa; con variaciones en los linajes celulares dependiendo de la fuente de las CPH.

La inmunidad innata es la primera en recuperarse; inicialmente existe una falsa recuperación de las células dendríticas, las cuales son las encargadas de presentar antígenos para iniciar con la inducción de la respuesta Th1; la cual en fases iniciales se puede observar normal, pero es hasta dos semanas después del trasplante que la respuesta del receptor comienza a observarse. La recuperación y buen funcionamiento, en conjunto con los NK es de suma importancia, ya que son los encargados de inducir la tolerancia y facilitar el injerto celular disminuyendo la citotoxicidad de los HLA como riesgo para presentar enfermedad de injerto contra huésped. Es importante destacar la neutropenia profunda durante los primeros 8-12 días, ya que es un factor de riesgo para la entrada de enfermedades infecciosas.

Posteriormente se inicia la generación de NK la cual se lleva en las primeras cuatro semanas y son los más predominantes en la circulación en los primeros tres meses postrasplante. Esta estirpe celular es de suma importancia en la recuperación ya que actúan en el ataque de infecciones en fases iniciales limitando su progresión, previo a la aparición de la respuesta de los linfocitos T y B, a pesar de no tener funcionalidad del 100%. Es importante que se lleve de manera adecuada esta recuperación, “ya que como lo han demostrado diferentes investigadores de estos linfocitos y su capacidad alorreactiva independiente del complejo mayor de histocompatibilidad, depende en gran medida del establecimiento de la enfermedad, injerto contra tumor y mediada por los genes KIR (*killer Ig-like receptors*)”. (23).

En cuanto a los linfocitos T existen dos procesos diferentes para su recuperación y maduración. Es así que en este proceso existe una reconstitución dependiente del timo y otra independiente de este.

La reconstitución de la serie de linfocitos T independiente del timo se lleva a través de las células recibidas del donador, las cuales se generarán casi inmediatamente posterior al trasplante; existiendo un periodo de defensa secundario a la gran cantidad de citocinas liberadas al momento de llevarse la reconstitución celular, dentro de las cuales se encuentran la IL7, IL15 e IL12. Esta respuesta se lleva a través del ambiente linfopénico dentro del cual se encuentra el TCPH, con una consiguiente respuesta relativamente temprana de las células donadas.

Dentro de los tipos de linfocitos T que se encuentran madurando en este proceso independiente de timo, se ha encontrado que son los CD8 quienes tienen una mejor adaptabilidad y replicación comparado con los CD4; se desconoce la causa, pero se piensa que es secundario a la linfopenia dentro del ambiente. Cabe mencionar que la respuesta inmune en esta fase es secundaria a los linfocitos de memoria del donador, por lo cual, la respuesta ante patógenos y enfermedad de injerto contra huésped, será dada por las células del donador y no por las nuevas generadas en el receptor.

La mayor parte de la reconstitución de los linfocitos T se lleva a cabo bajo la influencia del timo. Es así, que los linfocitos CD34+ se implantan a la médula ósea para posteriormente entrar al torrente sanguíneo hasta llegar al timo donde se llevará la maduración previamente descrita, adquisición de receptores, formación de TCR y proceso de selección positiva y negativa. Una vez implantado el injerto, es importante la coordinación de los linfocitos T infundidos con el estroma tímico para un adecuado control en la maduración y replicación, para con ello poder adaptar la respuesta del donador con la del receptor, con la posterior recuperación de funciones y disminución del riesgo de rechazo con el paso del tiempo. En este contexto, una adecuada recuperación y adaptación beneficiará al receptor disminuyendo el riesgo de infecciones y enfermedad de injerto contra huésped siempre y cuando exista un adecuado microambiente en el estroma y células epiteliales del timo; los cuales pueden verse influenciados por el tiempo y tipo de quimioterapia utilizada, así como el uso de esteroides, los cuales inhibirán el proceso de replicación de los linfocitos, perpetuando la linfopenia en el receptor.

Los linfocitos CD8 tienen una función citotóxica y funciones anti-infecciosas al igual que los NK. Tienen una variabilidad aproximada de formación de 1-2 semanas respecto a los NK y alcanzan valores y funcionalidad normal alrededor del día +90 a 1 año postrasplante. Por el contrario, los linfocitos CD4+ tienen una recuperación más lenta y generalmente pueden empezar a detectarse en el sexto mes postrasplante.

“Dado que los linfocitos CD4 se encuentran disminuidos y los linfocitos CD8 se encuentran incrementados, el cociente CD4/CD8 se encuentra invertido durante casi todo el primer año posterior al trasplante.” (23)

Por otro lado, la reconstitución de la respuesta adaptativa se lleva a través de la recuperación de los linfocitos B, así como la influencia del origen de las células progenitoras hematopoyéticas. Este último factor nos podrá dar algunas diferencias entre las estirpes celulares que madurarán, así como una pauta en la velocidad de recuperación celular.

La regeneración de los linfocitos B es diferente a la reconstitución de la respuesta innata debido a que estos deben formarse desde la médula ósea a diferencia de los anteriores que pueden iniciar su respuesta a partir de las células del donador. Es así, que la replicación a través de las células donadas es de muy bajo impacto para el trasplante y respuesta inmune.

Dentro del desarrollo de los linfocitos B nuevos, existe un proceso de adaptación en donde los linfocitos B van adquiriendo nuevos marcadores de superficie dentro de la médula ósea para ser liberados a la circulación sistémica. No es hasta que tienen los marcadores específicos CD19+CD24++CD38++ que se encuentran circulantes. Así mismo, dentro de su proceso de maduración, adquirirán el marcador CD27, para ser identificados como linfocitos de memoria. Al paso de la maduración e influenciado por los linfocitos TCD4, los linfocitos que siguen esta vía pueden tener el estímulo para migrar hacia la médula ósea nuevamente y es ahí donde empiezan su replicación para convertirse en células dendríticas, y por consiguiente, ser células con alta afinidad a anticuerpos.

Los linfocitos B que no siguen este camino son dependientes de IgM, con lo cual adquieren la capacidad de unirse a los polisacáridos de la pared celular y con ello llegar al bazo para poder iniciar la respuesta inicial desencadenada por IgM y reconocimiento de anticuerpos. Tienen una recuperación lenta y pueden encontrarse disminuidos los primeros dos años, por lo cual es de suma importancia mantener una adecuada profilaxis contra microorganismos encapsulados. Así mismo, la influencia de linfocitos TCD4 es muy importante en estas fases, ya que,

si no existiese una adecuada recuperación de linfocitos T, no sería posible la recuperación de linfocitos B IgM dependientes.

La recuperación de los linfocitos B se caracteriza por mantenerse fuera de parámetros normales comparado con un paciente inmunocompetente, es decir, el recuento celular se mantiene bajo o indetectable durante los primeros 100 días postrasplante, lo cual se ve reflejado en una respuesta humoral defectuosa y un conteo bajo de anticuerpos en el primer año postrasplante. Por el contrario, la recuperación de las inmunoglobulinas aumenta en los primeros meses postrasplante en el siguiente orden: “IgM en los primeros 2-6 meses, seguido de IgG en los primeros 3-18 meses y finalmente niveles de IgA que se lleva a cabo en un periodo de 6-36 meses” (22); los cuales son influenciados por la recuperación de los linfocitos B.

ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED

Dado el aumento del número de TCPH que se realizan actualmente y la tendencia a ser una terapia de erradicación y curación de enfermedades que afectan a la producción de células sanguíneas, es importante conocer esta entidad, ya que, como se ha mencionado, es una de las complicaciones más tempranas en el TCPH alogénico y, a su vez, una de las más graves pudiendo comprometer el injerto y supervivencia de este, así como de la vida del paciente trasplantado o tender a la cronicidad.

Para la aparición de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) se deben presentar los siguientes factores: el injerto debe contener células inmunológicamente competentes, los antígenos tisulares del huésped deben ser diferentes a los del donante y el receptor debe encontrarse en una situación de inmunocompromiso.

Las células responsables de la aparición de la EICH son los linfocitos T, los cuales montan una respuesta en los tejidos del receptor que contengan dichos linfocitos, como lo puede ser: células sanguíneas, médula ósea y órganos sólidos. Al tener el

receptor una respuesta inmunológica suprimida y ser trasplantado con glóbulos blancos, se incrementa exponencialmente el riesgo para presentar EICH.

La EICH se instaura ante una respuesta predeterminada de los linfocitos T del receptor ante los HLA del donador, la cual es directamente proporcional al *mismatch* entre las proteínas de los HLA. Para disminuir el riesgo de presentación es importante realizar pruebas cruzadas previo al trasplante para conocer la compatibilidad, los cuales deben ser no menos de 8:10 en las nuevas pruebas de determinación inmunológica y compatibilidad. "A pesar de esto, el 40% de los pacientes que tienen HLA idénticos entre donador y receptor, presentan EICH secundario a los loci donde se encuentran los HLA". (27)

Se traduce en una respuesta inflamatoria exagerada mediada por los linfocitos del donador ante la presencia de linfocitos T del receptor. A partir de esto se desencadena una respuesta de citocinas y quimiocinas aumentando la expresión de células presentadoras de antígenos produciendo una respuesta exagerada. A pesar de estar inmunosuprimido el receptor, existen depósitos de linfocitos T en los tejidos, con lo cual se estimula la respuesta a partir de estas células con la producción de factores proinflamatorios, creando una reacción anti HLA, detectando lo propio de lo extraño y produciendo esta entidad patológica.

Tabla 7. Manifestaciones clínicas de la EICH aguda	
SISTEMA	MANIFESTACIONES
Piel	Exantema maculopapular
Tracto digestivo superior	Náusea, anorexia y hallazgos histológicos compatibles (úlceras en parche, abscesos en criptas, pérdida epitelial)
Tracto digestivo inferior	Diarrea acuosa, dolor abdominal, sangrado intestinal descartando causas infecciosas
Hígado	Hiperbilirrubinemia con patrón colestásico
De: Ferrara, J.L.M; Levine, J.E; Reddy, P & Holler, E. (2009). <i>Graft-versus-host disease</i> . 09 mayo 2022, de Lancet Sitio web: https://infectiousdiseases.med.wayne.edu/pdfs/graft_versus_host_disease.pdf	

Tabla 8. Manifestaciones clínicas de la EICH crónica	
SISTEMA	MANIFESTACIONES
Piel	Despigmentación, alopecia, poiquiloderma, liquen plano, esclerosis
Uñas	Distrofia o pérdida de uñas
Boca	Xerostomía, úlceras, queilitis, esclerosis
Ojos	Ojo seco, queratoconjuntivitis sicca, queratitis filamentosa, queratopatía en banda, perforación ocular e insuficiencia limbar,
Musculoesquelético	Fascitis, miositis, contracturas
Tracto gastrointestinal	Anorexia, pérdida de peso, estenosis esofágica
Hígado	Ictericia, transaminasemia

Pulmonar	Patrones restrictivos y obstructivas, bronquiolitis obliterans, derrame pleural
Renal	Síndrome nefrótico
Cardiovascular	Pericarditis
Médula ósea	Trombocitopenia, anemia, neutropenia
De: Ferrara, J.L.M; Levine, J.E; Reddy, P & Holler, E. (2009). <i>Graft-versus-host disease</i> . 09 mayo 2022, de Lancet Sitio web: https://infectiousdiseases.med.wayne.edu/pdfs/graft_versus_host_disease.pdf	

Existen tres fases dentro de la patogenia de la EICH, las cuales son:

Régimen de acondicionamiento

En este periodo se produce el daño a las mucosas secundario a la quimioterapia y radiación recibida como preparación. Las células activadas producirán citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento promoviendo el aumento de la expresión de HLA y moléculas de adhesión.

Activación de las células T del donante

Se caracteriza por la presentación de los antígenos y la activación, proliferación y diferenciación de linfocitos T procedentes del donador. Es así como al entrar los CD4+ y CD8+ al torrente sanguíneo, interactúan con las células presentadoras de antígeno, reconociendo lo propio de lo ajeno e interactuando a través de estas con los HLA del donador y receptor. Generalmente se presenta la respuesta secundaria a los HLA, pero en algunos casos puede ser secundario a la estimulación de complejos menores de histocompatibilidad.

Inicialmente las células T activadas secretan citocinas proinflamatorias a partir del injerto y posteriormente se da la respuesta del receptor.

Fase efectora de la inflamación

“Los NK son los responsables de los efectos citolíticos que se incrementan por los mediadores inflamatorios y las citoquinas. La respuesta inflamatoria amplifica el daño celular al estimular la síntesis de TNF- α , IL-1 α e incrementar las moléculas HLA clase II y de adhesión ICAM-1, en la piel y tracto digestivo.” (28)

Tratamiento profiláctico y en la EICH

Como profilaxis se ha estipulado el uso de inhibidores de calcineurina, ya que la calcineurina es un factor importante para la activación de los linfocitos T. Actualmente las terapias con tacrolimus y ciclosporina son bien toleradas por los pacientes y se utilizan de primera línea. Se ha demostrado que el uso concomitante con micofenolato de mofetilo y metotrexate mejoran la respuesta y disminuyen el riesgo de presentación de la EICH.

Como tratamiento de la EICH se utilizan diferentes esquemas de esteroides, con lo cual se inhibe la respuesta inmunológica, lo que conlleva a una protección para el injerto y el paciente, disminuyendo el riesgo de rechazo y muerte del paciente trasplantado.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Principal: ¿Cuál es la evolución de la reconstitución inmune durante los primeros 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos?

Secundaria: ¿Existe relación entre el tamaño del timo pretrasplante y las cuentas linfocitarias (CD3+CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19) 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos?

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, la terapia celular se ha abierto campo en el tratamiento de muchos padecimientos hematológicos malignos y no malignos en la infancia. El potencial curativo del trasplante no depende de la cantidad de quimioterapia de acondicionamiento, sino de la reconstitución humoral y celular del sistema inmunológico implantado, la cual se encarga del control de la enfermedad residual mínima. Existe una recuperación rápida de la subpoblación NK y CD 3, mientras que las otras subpoblaciones linfocitarias tienen un proceso de recuperación incompleto en el primer año de vida.

El propósito de esta investigación surge de la insuficiente información en población mexicana acerca de la reconstitución inmune; la inexistencia estudios donde se asocie la capacidad y recuperación inmune secundaria al tamaño de timo o asociación alguna. Como punto a favor de esta investigación los linajes pueden ser medidos y observados a través de marcadores específicos, con lo cual podemos medir la recuperación de los linajes celulares.

DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es una opción curativa para enfermedades neoplásicas, inmunodeficiencias y alteraciones intrínsecas de la médula ósea, teniendo una tasa de éxito del 60-70% en fallas medulares y hasta 90% en inmunodeficiencias. La reconstitución inmune es un paso fundamental para el éxito del trasplante ya que es la recuperación del conteo linfocitario para una adecuada respuesta inmune proporcionada por el donador; siendo así una herramienta indispensable para medir la efectividad y éxito del trasplante. En esta investigación se propone medir la respuesta celular, así como la eficacia de dicho tratamiento debido a que no existen en población mexicana estudios relacionados al tiempo de respuesta celular posterior al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Así mismo, al no existir investigaciones relacionadas con el tamaño del timo y reconstitución inmune, nos interesa explorar sobre la relación entre el tamaño y la edad bajo el supuesto de que el tamaño del timo puede ser un factor potencial que influya en la respuesta (recuperación), debido a que el timo en la población pediátrica es un órgano linfoide activo.

HIPÓTESIS

Principal: Los linfocitos CD3, CD4, CD8, CD19 y CD56 incrementarán 10% respecto a los valores normales para la edad en el primer mes postrasplante y hasta 50% a los 6 meses.

Secundaria: El tamaño del timo pretrasplante tiene una correlación positiva con las cuentas linfocitarias (CD3+CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19) 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos.

OBJETIVOS

General: Describir la evolución de la reconstitución inmune durante los primeros 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos, así como correlacionar la velocidad de esta con el tamaño del timo en las diversas fases de la reconstitución inmune.

Específicos

1. Describir la evolución de la reconstitución inmune medida mediante cuentas linfocitarias (CD3+CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19) al 1, 3 y 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos con y sin enfermedad neoplásica.
2. Describir la evolución de la reconstitución inmune medida mediante cuantificación de inmunoglobulinas al 1, 3 y 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos con y sin enfermedad neoplásica.

Secundario

Comparar el tamaño de timo pretrasplante con las cuentas linfocitarias (CD3+CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19) 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos con y sin enfermedad neoplásica.

METODOLOGÍA

Se incluirán pacientes de 0 a 18 años en protocolo para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas donde se realizará la medición del timo por ultrasonografía previo y postrasplante, así como la medición de CD3, CD4, CD8, CD19 y CD56 e inmunoglobulinas a los 1, 3 y 6 meses posterior al trasplante.

Diseño de estudio

- De acuerdo con la imposición o no de una maniobra con fines de investigación es un estudio: Observacional
- De acuerdo con seguimiento o no del paciente a través del tiempo es un estudio: Longitudinal, prospectivo.
- De acuerdo con la direccionalidad en la obtención de la información es un estudio: Retroproyectivo
- De acuerdo con la búsqueda o no de asociación entre dos variables es un estudio: Descriptivo

Población de estudio

Se valorarán todos los pacientes del Hospital Infantil de México en protocolo y recepción de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el transcurso del año 2022.

Criterios de inclusión

- Pacientes de 0-18 años.
- Pacientes en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas por enfermedad maligna y no maligna.
- Pacientes que llevan seguimiento y tratamiento en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Pacientes candidatos a trasplante alogénico.

Criterios de exclusión

- Pacientes que han sido intervenidos quirúrgicamente en área torácica, ya que, al incidir en esta área, sobre todo en enfermedades cardíacas se realiza timectomía parcial o total.
- Pacientes que han recibido trasplante de células progenitoras hematopoyéticas previamente.

Criterios de eliminación

- Pacientes que presenten enfermedad de injerto contra huésped.
- Pacientes que no cuenten con seguimiento estricto de linajes celulares (Pre, 1, 3 y 6 meses).
- Pacientes que abandonen tratamiento/seguimiento en alguna fase de la investigación.
- Fallecimiento del paciente.

Tamaño muestral

Se estima una población mínima de 15 pacientes para la realización de esta investigación. En el Hospital Infantil de México Federico Gómez al año se realizan aproximadamente 30 trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas. Al encontrarnos en un periodo de finalización de pandemia por el virus SARS-CoV-2 se estima que el número de trasplantes pueda disminuir a la mitad como sucedió en el 2021. Para asegurar el número de candidatos a esta investigación se realizará un seguimiento estrecho de los pacientes vía telefónica, así como citas de seguimiento en dicha Institución para poder contar con la muestra mínima necesaria.

ANÁLISIS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS

TABLA 9. ANÁLISIS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS				
VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE
CUENTA ABSOLUTA DE LINFOCITOS CD3+, CD4+, CD8+, CD16/56, CD19	Número de células encontradas a través de marcadores específicos en la citometría de flujo	Recuento de linfocitos previo y posterior al TCPH en números enteros	Numérica (cel/mm ³)	Cuantitativa, discreta
TAMAÑO DEL TIMO	Tamaño del timo en eje longitudinal, transversa, anteroposterior y volumen		Numérica (Vol. Cm ³)	Cuantitativa, continua
EDAD	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el diagnóstico	Años/meses	Cuantitativa, discreta
SEXO	Conjuntos de características biológicas, físicas, fisiológicas y anatómicas que definen a los seres humanos como hombre o mujer	Condición orgánica del receptor que distingue como masculino o femenino	Masculino/ Femenino	Cualitativa, dicotómica
DIAGNÓSTICO DE BASE	Patología susceptible para trasplantar	Enfermedad que presentó el paciente previo al TCPH		Cualitativa, nominal
TIPO DE TRASPLANTE	Sitio de procedencia de las células progenitoras hematopoyéticas	Sitio de procedencia de las CPH del propio paciente (autólogo) o del donador	Autólogo/ Alogénico	Cualitativa, dicotómica

		relacionado o no relacionado (allogénico)		
FUENTE DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS	Lugar de obtención de las células madre hematopoyéticas	Lugar de obtención de las células madre hematopoyéticas como médula ósea, cordón umbilical o sangre periférica	Sangre periférica, cordón umbilical, médula ósea	Cualitativa, nominal
ACONDICIONAMIENTO	Intensidad de la preparación para el TCPH	Intensidad de la preparación para el TCPH mediante aplicación de quimioterapia asociada o no a radioterapia previo al TCPH	Mieloablativo/ intensidad reducida	Cualitativa, dicotómica
PERIODO POST TRASPLANTE	Días transcurridos posterior al trasplante	Periodo posterior al TCPH: Fase temprana (del día 0 al día 30); fase intermedia (del día 31 al día 100); y fase tardía (desde el día 101 hasta el final del primer año	0-30 días 31-100 días >101 días	Cuantitativa continua

RESULTADOS ESPERADOS

Se espera encontrar que, a partir del tamaño inicial del timo de acuerdo con su percentil por edad, entre mayor sea el tamaño de dicho órgano linfoide, la recuperación de linfocitos será menor en tiempo comparado con estudios en población adulta; así como una reconstitución inmune más pronta.

UTILIDAD Y APLICABILIDAD

Al no existir suficiente información en población pediátrica acerca de la velocidad de recuperación del sistema inmune y cuentas celulares posterior al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; esta investigación tiene el propósito de determinar la velocidad y fases en la edad pediátrica de la reconstitución inmune, con lo cual, podremos tener un panorama más amplio de los momentos de mayor vulnerabilidad del paciente para presentar complicaciones derivadas del trasplante. Por otro lado, al determinar la asociación del tamaño del timo con la velocidad de recuperación celular y de inmunoglobulinas, se podrá asociar como determinante para una mejor reconstitución inmune.

VALOR SOCIAL Y EN SALUD PÚBLICA

El valor que agrega esta investigación al área de la salud es conocer cuál es el alcance que tienen las terapias de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en la población pediátrica, esto con el fin de estimar y determinar la capacidad de reconstitución inmune para poder incidir en los tratamientos, pre y postrasplante, determinar la funcionalidad del timo y su relación con la recuperación del linaje de linfocitos T. Así mismo, se puede estimar a través de los resultados el tiempo que debemos esperar para hablar de un sistema inmune reconstituido que pueda dar la seguridad a los niños con enfermedades oncológicas y no oncológicas sobre el riesgo de inmunosupresión y/o respuesta inmunológica adecuada en el primer año de vida.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios citados en la Ley General de Salud dentro del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, cuya última reforma fue publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2 de abril de 2014. La información obtenida y su uso fue de carácter confidencial, sin utilizar nombres, números de expediente ni fechas que permitan identificar a los pacientes en estudio.

La realización de los estudios se llevó a cabo dentro de las instalaciones del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el área de trasplante, así como en el laboratorio clínico donde se hizo la recolección de muestras sanguíneas derivadas al seguimiento postrasplante, con lo cual se identificó la reconstitución inmune y en el área de imagenología, donde realizaron los ultrasonidos supraesternales con enfoque en la glándula tímica.

Al ser un estudio observacional, donde no existió incidencia en terapéutica, elección de donador ni área de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; se tomó el consentimiento verbal por parte de los padres o tutores con previa explicación del propósito del estudio.

RESULTADOS

Se identificaron a todos los pacientes pediátricos del Hospital Infantil de México Federico Gómez entre 0 y 18 años que se encontraban en protocolo de células progenitoras hematopoyéticas en un periodo de enero 2022 a octubre de 2022, de los cuales 15 de estos cumplieron con criterios de inclusión.

Características demográficas

A continuación, se describen las características de cada paciente y evolución durante el estudio.

Caso 1: Paciente masculino de 14 años y 7 meses con diagnóstico de leucemia granulocítica crónica con translocación 9:22.

Se realizó ultrasonido de timo tres meses previos al trasplante donde se encontraron los siguientes resultados: A través de la ventana supraesternal se observan grandes vasos visualizándose imagen triangular, hipoeoica con bordes circunscritos, con múltiples puntos ecogénicos dispersos en su parénquima en relación con timo, con dimensiones de 21 x 9.4 x 16 mm y volumen de 1.8cc. Dentro de su seguimiento pretrasplante no sufrió ninguna complicación.

Se realizó trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de tipo alogénico de donador relacionado 100% compatible de sangre periférica. Posterior al trasplante recibió tratamiento con imatinib 200mg cada 12 horas; ciclosporina 120mg vía oral cada 12 horas; aciclovir 800mg cada 8 horas; trimetoprima con sulfametoxazol 120mg vía oral cada 12 horas lunes, miércoles y viernes; vitaminas ACD; vitamina D, omega 3 y ácido fólico.

Continuó con adecuada evolución clínica y se realizó ultrasonido de timo al día +40 postrasplante por mismo radiólogo pediatra con los siguientes hallazgos: A través de la ventana supraesternal se observan grandes vasos de localización habitual y delante de los mismo se identifica imagen triangular, ecogénica, con bordes circunscritos, parénquima homogéneo, con dimensiones de 9 x 2.9 x 13 mm y volumen de 0.2cc.

No se realizó citometría pretrasplante. En la Tabla 10 se encuentran los resultados de la citometría de flujo de control en el día +41 postrasplante, así como los rangos esperados para la edad y sexo.

TABLA 10. RESULTADOS DE CITOMETRÍA DE FLUJO		
POBLACIÓN O SUBPOBLACIÓN CELULAR	RESULTADOS OBTENIDOS AL DÍA +41 POSTRASPLANTE	VALORES DE NORMALIDAD PARA EDAD Y SEXO
LEUCOCITOS	2,500cel/ μ L	4,500-13,000cel/ μ L
PLAQUETAS	133,000cel/ μ L	150,000-350,000cel/ μ L
LINFOCITOS	14.2%	21-35%
NEUTRÓFILOS	65.5%	35-57%
CD3+ PORCENTAJE	74.1%	65-84%
CD3+ ABSOLUTOS	263cel/ul	1200cel/ul
CD3+CD8+ PORCENTAJE	34.2%	14-34%
CD3+CD8+ ABSOLUTOS	89.9cel/ul	330-1800cel/ul
CD3+CD4+ PORCENTAJE	55.7%	42-58%
CD3+CD4+ ABSOLUTOS	146.9cel/ul	560-2700cel/ul
CD16+CD56+ PORCENTAJE	2.9%	3-22%
CD16+CD56+ ABSOLUTOS	10.29cel/ul	70-480cel/ul
CD19+ PORCENTAJE	3.5%	6-23%
CD19+ ABSOLUTOS	12.42cel/ul	110-570cel/ul
CD45 ABSOLUTOS	355cel/ul	240-710cel/ul

Paciente que continuó con adecuada evolución clínica, sin embargo, inició con complicaciones secundarias a elevación de transaminasas en el día +93 postrasplante, por lo cual se realizaron los ajustes necesarios en el tratamiento; logra injerto al día +118 postrasplante con quimerismo 93.2%, sin embargo, se

realizó diagnóstico de enfermedad de injerto contra huésped hepático estadio II en el día +153 postrasplante.

Caso 2: Paciente femenino de 16 años 2 meses con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de alto riesgo por edad y recuento leucocitario elevado al diagnóstico.

Paciente que se encontraba en esquema quimioterapéutico en fase de mantenimiento en la semana 72. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante con las siguientes características: A nivel de la región retroesternal se observa piel de grosor normal, a nivel de los grandes vasos se observa imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 19 x 20 x 7.4 mm y volumen de 1.5cc.

Paciente que ingresó a hospitalización por diagnóstico de fiebre y neutropenia quien fallece en dicho internamiento.

Caso 3: Paciente femenino de 3 años 11 meses con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de células pre-B de alto riesgo por presencia de cromosoma filadelfia. A la detección de la paciente se encontraba en fase de radioterapia mieloablative en su primera sesión de ocho.

Se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A nivel de la región retroesternal se observa piel de grosor normal, a nivel de los grandes vasos se observa imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 15 x 5.2 x 15 mm y volumen de 0.6cc.

La paciente continua en preparación para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y término de esquema mieloablative.

Caso 4: Paciente femenino de 12 años 6 meses con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de riesgo habitual. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A nivel de la región retroesternal se observa piel de grosor normal, a nivel de los grandes vasos se observa imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 12 x 4.7 x 15 mm y volumen de 0.4cc.

Paciente que recibió esquema mieloablatoivo con siete sesiones de radioterapia mieloablatoiva, con adecuada respuesta al tratamiento corroborado por biometría hemática y reducción de la serie eritroide, mieloide y linfoide, por lo cual se realizó trasplante de células progenitoras hematopoyéticas alogénico de donador no relacionado 100% compatible de sangre periférica.

La paciente se encontró con adecuada evolución clínica hasta que presentó al día +33 aumento de las transaminasas, por lo cual se hizo diagnóstico de enfermedad de injerto contra huésped de origen hepático estadio II.

Caso 5: Paciente masculino de 10 años 7 meses con diagnóstico de anemia de Fanconi. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A través de la ventana supraesternal se observan grandes vasos de localización habitual, no identificándose imagen compatible con timo.

El paciente fue trasplantado de células progenitoras hematopoyéticas alogénico de donador no relacionado 100% compatible de sangre periférica, sin embargo, con mala evolución clínica ya que presentó infección asociada a los cuidados de la salud, con posterior diagnóstico de choque séptico al día +27, así como enfermedad de injerto contra huésped cutáneo grado I y gastrointestinal grado II. Paciente que continuó con mala evolución clínica y falleció al día +66 postrasplante.

Caso 6: Paciente femenino de 3 años 8 meses con diagnóstico de anemia aplásica. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A través de la ventana supraesternal se observan grandes vasos identificándose imagen sugestiva de timo, de bordes irregulares y parcialmente definidos, ecogénica, con dimensiones de 9.3 x 11 x 6.5 mm y volumen de 0.4cc.

El paciente fue trasplantado de células progenitoras hematopoyéticas alogénico de donador no relacionado 100% compatible de sangre periférica, sin embargo, con mala evolución clínica ya que presentó infección asociada a los cuidados de la salud, con posterior diagnóstico de choque séptico al día +19, siendo causa de defunción ese mismo día.

Caso 7: Paciente masculino de 3 años 1 mes con diagnóstico de anemia aplásica. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A través de la ventana supraesternal se observan grandes vasos identificándose imagen triangular, hipocóica con bordes circunscritos, con múltiples puntos ecogénicos dispersos en su parénquima en relación con timo, con dimensiones de 14 x 6.7 x 10 mm y volumen de 0.5cc.

Paciente que continuó en seguimiento por servicios tratantes, sin embargo, en estudios de control se encontró en más de una ocasión, con meses de diferencia biometría hemática con recuperación de todas las líneas celulares, así mismo, cuenta con último aspirado de médula ósea con los siguientes hallazgos: médula ósea hipocelular +, megacariocitos presentes, jóvenes, algunos no productores de plaquetas; serie mieloide con adecuada maduración, serie linfóide sin alteraciones, serie eritroide con adecuada maduración, sin células ajenas a médula ósea.

Con los resultados de la biometría hemática y aspirado de médula ósea se considera que el paciente se encuentra en recuperación espontánea medular, por lo que se mantendrá en vigilancia y por el momento no cuenta con indicación para realizar trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

Caso 8: Paciente masculino de 12 años 4 meses con diagnóstico de artritis idiopática juvenil. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A través de la ventana supraesternal se observan los grandes vasos visualizándose anteriormente una imagen triangular, hipoeoica con bordes circunscritos, ecogénica, con dimensiones de 16 x 4.5 x 15 mm y volumen de 0.6cc.

Actualmente se encuentra en tratamiento con leflunomida, sulfasalezina, calcitriol + vitamina D, isoniacida, omeprazol, deflazacort y etanercept por patología de base. Continúa en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en espera de donador e inicio de terapia mieloablative para realización de este.

Caso 9: Paciente masculino de 11 años 10 meses con diagnóstico de leucemia mieloide aguda. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A nivel de la región supraesternal se observa a nivel de los grandes vasos imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 14 x 5.2 x 19 mm y volumen de 0.8cc.

El paciente fue trasplantado de células progenitoras hematopoyéticas alogénico de donador no relacionado 100% compatible de sangre periférica, sin embargo, quien presentó enfermedad de injerto contra huésped hiperaguda cutáneo grado IV, hepático grado III y gastrointestinal grado III en el día +3 postrasplante.

Caso 10: Paciente masculino de 5 años con diagnóstico de neuroblastoma. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A nivel de la región supraesternal se observa a nivel de los grandes vasos imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 16 x 8 x 18 mm y volumen de 1.4cc.

El paciente continúa en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y en tratamiento y vigilancia de patología de base.

Caso 11: Paciente femenino de 15 años con diagnóstico de leucemia mieloide aguda. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A nivel de la región supraesternal se observa a nivel de los grandes vasos imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 18 x 8.7 x 18 mm y volumen de 1.5cc. La paciente continúa en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y en tratamiento y vigilancia de patología de base.

Caso 12: Paciente masculino de 14 años 9 meses con diagnóstico de anemia aplásica. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: A nivel de la región supraesternal se observa a nivel de los grandes vasos imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 21 x 7.7 x 16 mm y volumen de 1.4cc. El paciente continúa en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y en tratamiento y vigilancia de patología de base.

Caso 13: Paciente femenino de 10 años 3 meses con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de alto riesgo por cuenta leucocitaria. Se entrevista a los padres quienes no aceptan incluirse al protocolo de estudio. Paciente que se encuentra en vigilancia y tratamiento de patología de base.

Caso 14: Paciente masculino de 7 años 3 meses con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de riesgo habitual. A su detección se realizó ultrasonido de timo pretrasplante donde se encontraron los siguientes hallazgos: En región retroesternal se observa a nivel de los grandes vasos imagen compatible con timo, de forma triangular, de parénquima homogéneo, con dimensiones de 17 x 5.9 x 15 mm y volumen de 0.8cc.

El paciente continúa en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y en tratamiento y vigilancia de patología de base.

Caso 15: Paciente femenino de 13 años 5 meses con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de alto riesgo por edad. Se entrevista a los padres quienes no aceptan incluirse al protocolo de estudio. Paciente que se encuentra en vigilancia y tratamiento de patología de base.

En la Tabla 11. Características de los pacientes se describen con brevedad los casos anteriormente mencionados.

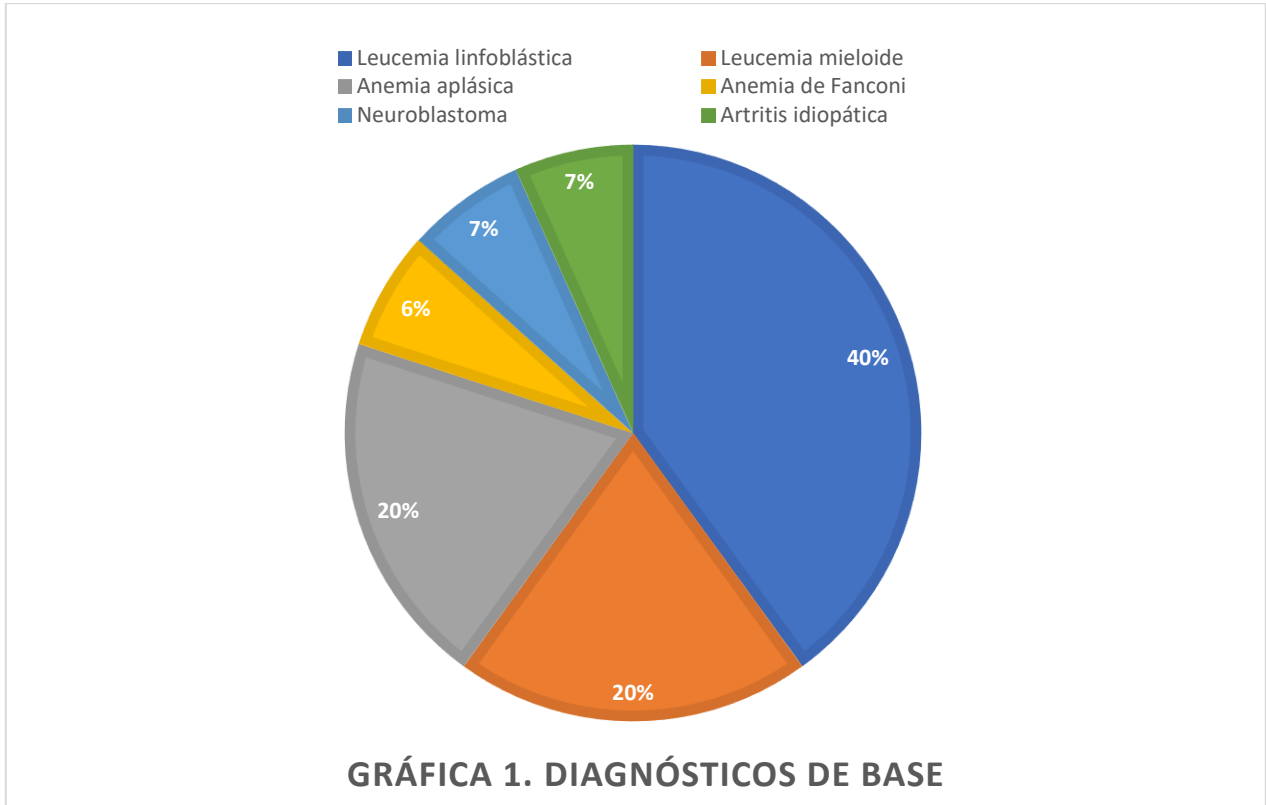
TABLA 11. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES						
Número de caso	Sexo	Edad	Diagnóstico	Quimioterapia / Radioterapia	Ultrasonidos	Trasplante de CPH
Caso 1	Masculino	14 años 7 meses	Leucemia granulocítica crónica t (9:22)	Sí	Sí	Sí
Caso 2	Femenino	16 años 2 meses	Leucemia linfoblástica aguda de alto riesgo por edad y recuento leucocitario elevado	Sí	Sí	No

Caso 3	Femenino	3 años 11 meses	Leucemia linfoblástica aguda de células B y alto riesgo por cromosoma filadelfia	Sí	Sí	No
Caso 4	Femenino	12 años 6 meses	Leucemia linfoblástica aguda de riesgo habitual	Sí	Sí	Sí
Caso 5	Masculino	10 años 7 meses	Anemia de Fanconi	Sí	Sí	Sí
Caso 6	Femenino	3 años 8 meses	Anemia aplásica	No	Sí	Sí
Caso 7	Masculino	3 años 1 mes	Anemia aplásica	No	Sí	No
Caso 8	Masculino	12 años 4 meses	Artritis idiopática juvenil	No	Sí	No
Caso 9	Masculino	11 años 10 meses	Leucemia mieloide aguda	Sí	Sí	Sí
Caso 10	Masculino	5 años	Neuroblastoma	No	Sí	No
Caso 11	Femenino	15 años	Leucemia mieloide aguda	Sí	Sí	No

Caso 12	Masculino	14 años 9 meses	Anemia aplásica	No	Sí	No
Caso 13	Femenino	10 años 3 meses	Leucemia linfoblástica aguda de alto riesgo por cuenta leucocitaria	Sí	No	No
Caso 14	Masculino	7 años 3 meses	Leucemia linfoblástica aguda de riesgo habitual	Sí	Sí	No
Caso 15	Femenino	13 años 5 meses	Leucemia linfoblástica aguda de alto riesgo por edad	Sí	No	No

De la población candidata al estudio, el sexo masculino fue el predominante, representando el 53.3% (8 pacientes), con una edad promedio de 8.9 años, con una desviación estándar de ± 5.8 años, siendo la edad máxima de 14 años 9 meses y como mínima 3 años 1 mes. El sexo femenino representó el 46.7% restante (7 pacientes), con edad promedio de 9.9 años, con una desviación estándar de ± 6.1 años, siendo la edad mínima de 3 años 8 meses y máxima de 16 años 2 meses.

En la Gráfica 1. Diagnósticos de base, se muestran las patologías más frecuentes dentro de la población de estudio.



Dentro de los pacientes que presentaron diagnóstico de leucemia linfoblástica, únicamente un paciente (16.6%) presentó mutaciones genéticas correspondientes a la presentación de cromosoma filadelfia (translocación 9:22), la cual fue del sexo femenino. Dentro de la población que presentó leucemia mieloide, únicamente un paciente de sexo masculino presentó translocación tipo cromosoma filadelfia, representando el 33.3% de este grupo etario.

Por otro lado, de las patologías presentadas en la muestra, el 66.6% correspondió a enfermedades malignas, dentro de las cuales el 90% correspondió a enfermedades hematológicas y el 10% restante a enfermedades del sistema nervioso. El 33.3% restante correspondió a enfermedades no malignas.

En el 33.3% (5 pacientes) de los seleccionados pudo concretarse el trasplante, de los cuales el 100% fue de tipo alogénico proveniente de sangre periférica. El 80% (4 pacientes) de los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas fueron provenientes de donadores no relacionados 100% compatibles, mientras que el 20% (1 paciente) restante provino de donador relacionado 100% compatible. De estos pacientes, el 80% presentaron enfermedad de injerto contra huésped, de los cuales uno presentó enfermedad de injerto contra huésped hiperagudo al día +3, el resto de los pacientes presentaron dicha entidad nosológica al día +27, +33 y finalmente en el día +153. El 20% (1 paciente) restante de los pacientes trasplantados falleció por complicaciones infecciosas en los primeros días postrasplante.

El 80% de los pacientes trasplantados recibieron un esquema de acondicionamiento mieolablativo con radioterapia corporal total, dentro de los cuales el 75% recibió 8Gy y uno 7Gy.

Los pacientes que fallecieron representaron el 20% (3 pacientes) de la muestra total, de los cuales el 33.3% (1 paciente) no logró concretar el trasplante ya que falleció por diagnóstico de choque séptico secundario a colitis neutropénica en la etapa de acondicionamiento mieloablativa. El 66.6% (2 pacientes) restante fallecieron secundario a choque séptico, el primero en el día +19 postrasplante y el otro paciente al día +27 postrasplante, el cual también contaba con diagnóstico de enfermedad de injerto contra huésped.

Aquellos pacientes que presentaron enfermedad de injerto contra huésped fueron el 26.6% (4 pacientes), de los cuales presentaron diferentes grados de la enfermedad. El 25% (1 paciente) presentó enfermedad de injerto contra huésped hiperaguda en el día +3 postrasplante, caracterizado por afección cutánea grado IV, hepático grado III y gastrointestinal grado III. El 50% (2 pacientes) presentaron enfermedad de injerto contra huésped agudo, dentro de los cuales uno presentó afección cutánea grado I y gastrointestinal grado III- IV en el día +27, mientras que el otro tuvo afección hepática grado II en el día +33. El 25% (1 paciente) restante

presentó enfermedad de injerto contra huésped crónica en el día +153 caracterizado por afección hepática grado II.

De la población total, a los pacientes que se realizaron ultrasonidos representó el 86.6% (13 pacientes), de los cuales se pudo realizar seguimiento al 6.6% (1 paciente). Dentro de los hallazgos en dicha población el 92.3% (12 pacientes) se encontraron hallazgos normales para la edad y sexo en cuanto a tamaño del timo. El 7.6% (1 paciente) de la muestra no se encontró glándula a través de dicha técnica radiológica.

El 100% de los pacientes que se pudo realizar ultrasonido de timo de seguimiento postrasplante se detectó una reducción del tamaño glandular, sin embargo, comparado con el recuento celular y reconstitución inmune, no mostró disminución en la velocidad ni en la capacidad de regeneración de los linfocitos T, por el contrario, se encontró una recuperación mayor a la esperada para el tiempo transcurrido.

De acuerdo con la hipótesis principal: Los linfocitos CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ y CD16+/56+ incrementarán 10% respecto a los valores normales para la edad en el primer mes postrasplante y hasta 50% a los 6 meses, se puede concluir que existió una recuperación mayor a la esperada en el periodo de 41 días postrasplante, representada en la Tabla 12. Porcentaje de recuperación linfocitaria.

TABLA 12. PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN LINFOCITARIA	
SUBPOBLACIÓN DE LINFOCITOS	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN AL DÍA +41
CD3+	21.9%
CD4+	26.2%
CD8+	27.2%
CD19+	11.2%
CD56+	14.7%

Con esto se puede afirmar que los resultados esperados correlacionan a los publicados en la literatura, con lo cual existe una mayor recuperación en la subpoblación de linfocitos T que en la B, tomando en cuenta el límite inferior de referencia como valor de normalidad de acuerdo con la edad y sexo.

Respecto a la hipótesis secundaria: El tamaño del timo pretrasplante tiene una correlación positiva con las cuentas linfocitarias (CD3+CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19) 6 meses postrasplante en pacientes pediátricos, se pudo observar que dentro de los primeros 40 días hubo una reducción del tamaño glandular sin afectar la capacidad de reconstitución inmune, por tanto, se puede inferir que la correlación entre el tamaño del timo y la recuperación celular es negativa originado de la teoría de la involución del timo.

Por otro lado, se puede concluir que el tamaño del timo aparentemente no se ve afectado por enfermedades malignas y no malignas de diferentes orígenes; así como esquemas quimioterapéuticos, ya que la mayoría de los pacientes mostraron un tamaño normal para la edad y sexo a pesar de encontrarse en diversos por esquemas terapéuticos por patología de base.

Finalmente, por la población estudiada, se puede observar que probablemente los pacientes que recibieron trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de donador relacionado tienen una mejor respuesta a este, ya que los pacientes que recibieron células provenientes de donadores no relacionados presentaron complicaciones tempranas, entre ellas, enfermedad de injerto contra huésped.

DISCUSIÓN

En cuanto a la velocidad de la reconstitución inmune se encontró que los pacientes a pesar de las condiciones de base y tratamientos mieloablativos utilizados previos al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, tuvieron una velocidad en la reconstitución inmune esperada para el tiempo estudiado postrasplante.

De acuerdo con la bibliografía consultada, no existe evidencia previa acerca de la relación del tamaño del timo con el grado de reconstitución inmune..

En cuanto a la reconstitución inmune, se utilizó como base el estudio realizado por Gaytán Morales et. al. (24) donde se estudió la velocidad de recuperación de los linfocitos T; si bien, en este estudio se hace el análisis a partir del tercer mes postrasplante, se encuentra que la velocidad de recuperación celular inicia por los *natural killers* (población no estudiada en este protocolo), con posterior recuperación de los linfocitos T, los cuales a partir del tercer mes muestran una recuperación de aproximadamente 800cel/mm³, comparado con los +41 días del paciente en estudio que tuvo una recuperación total de 89.9 cel/mm³ en la subpoblación de CD8+; sin embargo en el estudio comparado, se incluyeron 29 pacientes con patologías subyacentes equiparables a nuestra población de estudio (pacientes pediátricos, con o sin enfermedades oncológicas quienes se sometieron a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas), con la peculiaridad de que en ese estudio si se incluyeron pacientes que presentaron enfermedad de injerto contra huésped. A diferencia del estudio publicado por Gaytán Morales et. al. (24), se pudo identificar que la velocidad en la subpoblación de linfocitos CD19+ al día +41 fue casi similar a la encontrada a los 3 meses 19cel/ul (Gaytán Morales) versus 12.42cel/ul (este protocolo), con lo cual podemos encontrar una diferencia en la recuperación en esta subpoblación, encontrando una mayor velocidad en este estudio.

Dentro del estudio existió una disminución en cuanto al grupo representativo, secundario a que presentaron complicaciones asociadas al trasplante. Si bien, se tomó como criterio de eliminación el presentar enfermedad de injerto contra huésped; se tomó como criterio de riesgo la recuperación rápida de *natural killers*

(a pesar de no ser medidos) por la bibliografía publicada, donde existe evidencia científica en la cual destaca que “la capacidad alorreactiva independiente del complejo mayor de histocompatibilidad, depende en gran medida del establecimiento de la enfermedad (EICH), injerto contra tumor y mediada por los genes KIR.” (24).

Se eligió como órgano principal de estudio el timo ya que es uno de los órganos linfoides con mayor importancia dentro de la maduración celular y de la inmunidad, por lo tanto, se requiere conocer la influencia de este órgano dentro del proceso, para poder encontrar terapias que ayuden a tener una mejor recuperación celular postrasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Si bien, como se menciona en los artículos publicados por Singh J, Mohtashami, M et. al. (29); y Gaballa, A et. al (30), se encuentran en estudio terapias para una mejor recuperación celular y regeneración del timo posterior a terapias que afecten su función, sin embargo, no se encontró información relacionada al tamaño y función/recuperación celular.

De acuerdo con la bibliografía consultada, no se encontró evidencia de estudios relacionados al tamaño del timo y la velocidad de la reconstitución inmune, sin embargo, Singh J, Mohtashami, M et. al. (29) realizaron una investigación en ratones acerca de terapéuticas que podrían ser empleadas para una mejor reconstitución inmune. En este estudio utilizaron la ablación tanto física como química para poder observar el tiempo de recuperación celular y la calidad en los recuentos celulares. Se utilizaron tres terapéuticas distintas: 1. Estimuladores de las citocinas con enfoque en la administración de interleucina 22, 2. Castración química con agonistas de la gonadotropina y 3. Infusión de células ProT, donde encontraron que la producción celular tenía una mayor recuperación, sin embargo, el microambiente del timo no se veía modificado a pesar de las terapéuticas empleadas. Así mismo, utilizaron como marcador de la función los TRECs, donde se demostró con este estudio la recuperación en la función del timo. La base de este estudio se centró en la involución natural del timo en los humanos.

En cuanto al estudio publicado por Gaballa, A et. al (30), demostraron que el primer año postrasplante la recuperación de los linfocitos T es independiente al timo, sin

embargo, los años consiguientes existe una relación entre la función / velocidad de recuperación, por lo que se observó que en pacientes con mayor edad, la recuperación dependiente de timo es más lenta, comparada entre población pediátrica contra adultos (no se reporta tamaño de muestra). Así mismo, encontraron que la población femenina tiene una mayor expresión de TRECs comparado con la población masculina y bibliografía consultada por ellos.

Los hallazgos encontrados en estos dos estudios nos dan la pauta para continuar estudiando la relación del tamaño del timo, así como la función de este con marcadores específicos, para poder incidir en un futuro en terapias que permitan mejorar tanto la velocidad como la calidad en la reconstitución inmunológica como en la calidad celular, con una probable disminución en los eventos adversos relacionados con el trasplante.

En cuanto al tamaño del timo en la muestra de este estudio, se encontró que inicialmente contaban con un tamaño normal para la edad; sin embargo, el tamaño del timo se mostró afectado teniendo una disminución en este probablemente secundario al daño provocado por las terapias mieloablativas utilizadas para la preparación del trasplante de célula progenitoras hematopoyéticas.

Las debilidades encontradas en este estudio fue el contexto mundial en el que nos encontrábamos, habiendo una reducción en el número de trasplantes realizados durante el periodo estudiado por riesgo de contagios intrahospitalarios para SARS-COV-2. Así mismo, el utilizar la presencia de enfermedad de injerto contra huésped como criterio de eliminación disminuyó notablemente la muestra inicial contra la final.

En cuanto a las fortalezas encontradas en este estudio, destaca que es el primer estudio (de acuerdo con la bibliografía encontrada) a nivel mundial que compara el tamaño del timo con la velocidad en la reconstitución inmune en humanos. También es relevante que se llevó a cabo en un Instituto Nacional de Salud en México, lo cual facilitó la toma de muestras y realización de estudios de imagen para poder observar los cambios en el tiempo. Finalmente, la tendencia en muchas enfermedades hematológicas y no hematológicas es la resolución a través del

trasplante de células progenitoras hematopoyéticas con enfoque en la población pediátrica (muestra estudiada), por lo cual abre la pauta a nuevas investigaciones.

Si bien, no existen estudios en humanos que comparen el tamaño del timo con la velocidad y calidad en la reconstitución inmune, este protocolo podría marcar el inicio en el área de investigación para encontrar nuevas estrategias y factores que incidan en la mejoría de la calidad en cuanto a los trasplantes realizados, poder tener una estimación de la velocidad y funcionalidad del trasplante como pronóstico al comparar el tamaño del timo pre y postrasplante.

CONCLUSIONES

La reconstitución inmune inicia en el primer mes postrasplante de células progenitoras hematopoyéticas, con predominio en NK y linfocitos T.

No existe una asociación entre el tamaño del timo pre y postrasplante que influyera en la velocidad de la reconstitución inmune.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

TABLA 13. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES				
ACTIVIDAD	DICIEMBRE 2021 A ENERO 2022	FEBRERO 2022 A FEBRERO 2023	MARZO 2023 A MAYO 2023	ABRIL 2023
Revisión literaria	X			
Elaboración base de datos		X		
Análisis estadístico		X		
Análisis de resultados			X	
Discusión y conclusiones			X	
Redacción final				X

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mayani, H; Flores-Figueroa, E; Pelayo, R; Montesinos, J; Flores-Guzmán, P & Chávez-González, A. (2007). Hematopoyesis. *Mayani et al, Cancerología* 2. Pp 95-107. De: <http://incan-mexico.org/revistainvestiga/elementos/documentosPortada/1193426538.pdf>
2. Gaytán, F; Medina, A; Cicero, C; Dorantes, E; Juárez, L; Palomo, M; Perales, A; Zapara, M, Bello, A & Nava, S. (2011). Protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Guías clínicas HIM*. PP 1-16. De: <http://himfg.com.mx/descargas/documentos/planeacion/guiasclinicasHIM/TraspCeProgenHematopoyxticas.pdf>
3. Pérez-García, M; Olaya-Vargas, A; Del Campo-Martínez, A; Gaytán-Morales, F; Mújica-Guzmán, F; Juárez-Nicolás, F; Mora-Magaña, I & Augusto Alejandro Villar. (2012). Reconstitución inmunológica en niños receptores de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Medigraphic, Vol 21, Num 2, Mayo-Agosto*. PP 72-79. De: <https://www.medigraphic.com/pdfs/alergia/al-2012/al122d.pdf>
4. Trujillo, Y; Arce, S; Viguera, R; Martínez, I & White, V. (2018). El complejo mayor de histocompatibilidad. Organización genética, estructura, localización y función. *Panorama. Cuba y Salud* 2018; 13(1): 53-57. De: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cubaysalud/pes-2018/pes181i.pdf>
5. Gaytán-Morales, F. (2013). Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en pediatría. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2013; 12(3): 174-181. De: <https://www.elsevier.es/es-revista-gaceta-mexicana-oncologia-305-pdf-X1665920113270135>
6. López-Martínez, A; Chávez-Muñoz, C & Granados, J. (2005) Función biológica del complejo principal de histocompatibilidad. *Rev Invest Clin*. 2005; 57 (2): 132-141. De: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ric/v57n2/v57n2a5.pdf>
7. Vega. (2014). *Inmunología básica y su correlación clínica*. México: Panamericana. Cap 1 El sistema y la respuesta inmune. PP: 1-8.

8. Nigam Y, Knight J (2020) The lymphatic system 2: structure and function of the lymphoid organs. *Nursing Times [online]*; 116: 11, 44-48. De: <https://cdn.ps.emap.com/wp-content/uploads/sites/3/2020/10/201028-The-lymphatic-system-2-structure-and-function-of-the-lymphoid-organs.pdf>
9. Vega. (2014). *Inmunología básica y su correlación clínica*. México: Panamericana. Cap 4 Órganos linfoides. PP: 27-35.
10. Roitt & Brostoff. *Male immunology*. 6ta edición. Cap 2. Pp. 15-44
11. Abul, K., Abbas & Lichtman, A. *Cellular and molecular immunology*. 5ta edición. Cap 2. Pp 26-39
12. Marsán, V., Del Valle, L & Macías, C. (2013). *Aspectos actuales de la organogénesis. Función e involución del timo*. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2013;29 (4):349-358. De: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v29n4/hih05413.pdf>
13. Aster, J.C; Freedman, A.S, & Romarin, A.G. (2021). *Normal B and T lymphocyte development*, de UpToDate Sitio web: https://www.uptodate-com.pbidi.unam.mx:2443/contents/normal-b-and-t-lymphocyte-development?search=Normal%20B%20and%20T%20lymphocyte%20development&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
14. Olguín, M.J. (2022). *Factores de riesgo asociados a la presencia de infección y recurrencia por citomegalovirus en pacientes pediátricos postrasplantados de células progenitoras hematopoyéticas*. Ciudad de México: Tesis para obtener el título de especialista en infectología, Universidad Nacional Autónoma de México y Hospital Infantil de México "Dr. Federico Gómez".
15. Thomas ED, Bryant JI, Buckner CD, et al. Allogenic marrow grafting using HL–A matched donor–recipient sibling pairs. *Trans Assoc Am Physicians* 1971;84:248-261.
16. Balandrán, J.C. & Pelayo, R. (2016). *Ontogenia de los linfocitos B*. Revista de Alergia de México ene-mar;63(1):71-79. Sitio web: <https://revistaalergia.mx/ojs/index.php/ram/article/view/141/233>

17. Williams; Litchman, M.A.; Beutler, E.; Kipps, T.J.; Seligsohn, U.; Laushansky, K. & Prchal, J.T. (2006). *Hematology*. Séptima edición. Estados Unidos: McGrawHill. (pp. 1039-1082).
18. Vega. (2014). *Inmunología básica y su correlación clínica*. México: Panamericana. Cap 12 Linfocitos. PP: 109-119.
19. Kindt, T.J.; Goldsby, R.A. & Osborne, B.A. (2003). *Inmunología de Kuby*. Sexta edición. México: McGrawHill. Cap 10 Maduración, activación y diferenciación de la célula T. PP: 245-270
20. Kindt, T.J.; Goldsby, R.A. & Osborne, B.A. (2003). *Inmunología de Kuby*. Sexta edición. México: McGrawHill. Cap 11 Generación, activación y diferenciación de la célula B. PP: 271-303
21. Di Vito C, Mikulak J and Mavilio D (2019) *On the Way to Become a Natural Killer Cell*. *Front. Immunol.* 10:1812. doi: 10.3389/fimmu.2019.01812
22. Parra-Ortega, I; Nájera-Martínez, N; Gaytán-Morales, F; Castorena-Villa, I; Cortés-Flores, C; López-Martínez, B; Ortiz-Navarrete, V & Olvera-Gómez, I (2020). Reconstitución de células *natural killer* después del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en niños. *Gaceta Médica de México*; 2020; 156: 188-194.
23. Reem Elfeky, Arina Lazareva, Waseem Qasim & Paul Veys (2019) *Immune reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation using different stem cell sources*, *Expert Review of Clinical Immunology*, 15:7, 735-751, DOI: 10.1080/1744666X.2019.1612746
24. Pérez-García, M; Olaya-Vargas, A; Del Campo-Martínez, A; Gaytán-Morales, F; Mújica-Guzmán, F; Juárez-Nicolás, F; Mora-Magaña, I & Augusto Alejandro Villar. (2012). Reconstitución inmunológica en niños receptores de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Medigraphic, Vol 21, Num 2, Mayo-Agosto. PP 72-79. De: <https://www.medigraphic.com/pdfs/alergia/al-2012/al122d.pdf>*
25. Brown, V. I.. (2018). *Hematopoietic Stem Cell Transplantation for the Pediatric Hematologist/Oncologist*. Estados Unidos: Springer: Brief

- Introduction to the Basic Scientific Principles of Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT). PP: 19-49.
26. Instituto Nacional del Cáncer (2022). Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU. Diccionario del NCI.
27. Ferrara, J.L.M; Levine, J.E; Reddy, P & Holler, E. (2009). *Graft-versus-host disease*. 09 mayo 2022, de Lancet Sitio web: https://infectiousdiseases.med.wayne.edu/pdfs/graft_versus_host_disease.pdf
28. López, G; Beltrán, A; Álvarez-Morujó, G. & Hernández, E. (2010). Manifestaciones oftalmológicas de la enfermedad de injerto contra huésped. 09 mayo 2022, de Superficie ocular Sitio web: https://www.laboratoriosthea.com/medias/thea_superficie_ocular_47.pdf
29. Singh J, Mohtashami M, Anderson G and Zúñiga-Pflücker JC (2020) Thymic Engraftment by in vitro-Derived Progenitor T Cells in Young and Aged Mice. *Front. Immunol.* 11:1850. doi: 10.3389/fimmu.2020.01850
30. Gaballa A, Clave E, Uhlin M, Toubert A and Arruda LCM (2020) Evaluating Thymic Function After Human Hematopoietic Stem Cell Transplantation in the Personalized Medicine Era. *Front. Immunol.* 11:1341. doi: 10.3389/fimmu.2020.01341

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Dado que se trata de un estudio retroprolectivo, puede encontrarse la ausencia de tomos de los pacientes en estudio, por lo cual la información acerca de las fases de acondicionamiento y tratamientos previos al trasplante puede verse afectada al no encontrar información suficiente.

Así mismo, un segmento de la población en estudio en ocasiones no cuenta con los recursos para implementar un seguimiento estricto por lejanía del Hospital y por falta de recursos económicos, lo que imposibilita la exactitud de las mediciones en los tiempos preestablecidos.

Al ser una terapia con alto riesgo de complicaciones e infecciones, nos enfrentamos ante un panorama que si bien, puede retrasar el injerto del trasplante, también puede repercutir en los periodos de estudio por imposibilidad de traslado del paciente o bien, fallecimiento de este.

Finalmente nos encontramos en un periodo postpandemia, dentro del cual aún se continúan estableciendo protocolos de seguridad a nivel nacional, que pueden afectar tanto el traslado de los pacientes como los recursos necesarios para la implementación de las terapias de trasplante.

ANEXOS

Anexo 1. Recopilación de datos

1. Paciente									
Nombre	Registro	Fecha de nacimiento	Edad	Sexo	M	F			
2. Características									
Diagnóstico	Fecha de diagnóstico	Tratamiento	Candidato a TCPH	Sí	No				
3. Estudios									
USG pretrasplante	Sí	No	Resultado						
Citometría de flujo	Sí	No	Resultado						
4. Trasplante									
Quimioterapia	Sí	No	Fecha de trasplante	Relación de trasplante	No relacionado				
Radioterapia	Sí	No		Fuente de células	Sangre periférica	Cordón umbilical			
				% compatibilidad					
5. Evolución									
Días postrasplante									
Complicaciones	Sí	No	Días postrasplante	Tipo de complicación					
USG seguimiento	Sí	No	Fecha	Resultado					
Citometría postrasplante	Sí	No	Fecha	Resultado					