



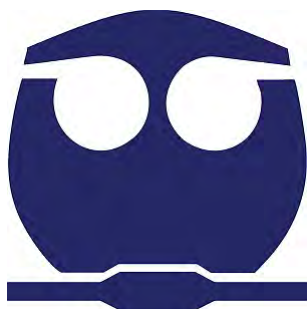
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DOBLE TRASPLANTE CON CÉLULAS
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS: UNA
ALTERNATIVA EN ADULTOS

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

P R E S E N T A:
KARINA LIZETH DURÁN SANTOS



MÉXICO D.F.

2009



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.

Jurado asignado:

Presidente: EVA DELIA CALDERÓN GARCIDUEÑAS

Vocal: LAURA CECILIA BONIFAZ ALONZO

Secretario: ARACELI MENDIETA RERGIS

1er Suplente : MONICA BERENICE HERAS CHAVARRIA

2do Suplente: JULIO CESAR MARTINEZ ALVAREZ

**Sitio donde se desarrolló el tema:
BANCO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL DEL CENTRO NACIONAL DE LA
TRANSFUSIÓN SANGUINEA**

Asesor del tema

MC. EVA DELIA CALDERÓN GARCIDUEÑAS

Sustentante

KARINA LIZETH DURÁN SANTOS

AGRADECIMIENTOS

Virgencita de Guadalupe: Tal como lo prometí, aquí esta al fin.

No cabe duda que cuando tienes un sueño y te propones alcanzarlo es posible lograrlo, a veces el camino es difícil, duro y hasta algunas veces piensas en abandonar tus ideales y darte por vencido, pero es un hecho que si realmente pones todo de ti, te esfuerzas al máximo y con la ayuda de los que te quieren podrás alcanzarlo.

Es así como yo llegue hasta aquí, con ayuda de los que quiero y me quieren.

Este trabajo se lo dedico a mi Papi Felipe y a mi Mami Rosy que siempre estuvieron en las buenas y en las malas apoyándome para poder salir adelante y para que no abandonara la carrera y pudiera llegar hasta la meta. Gracias por su apoyo, sus regaños, su comprensión y su todo, gracias por nunca dejarme de dar su amor y sus consejos.

También agradezco a mis hermanos a mis tíos y a mis primos que también siempre me impulsaron para poder seguir adelante y me ayudaron en este largo trayecto.

Te doy gracias Eva por haber puesto tu confianza en mi para poder realizar este trabajo y por apoyarme en todo momento y gracias por tu amistad y por ser una personita super y un ejemplo a seguir.

GRACIAS a los que están aquí, a los que ya se fueron y ya no están aquí, a los que ya se fueron y siguen aquí, a los que conocí y ya olvide , a los que conocí y nunca olvidare, a los que no he conocido y conoceré, a mis amigos y a mis enemigos, gracias a todos en donde quiera que estén.

¡GRACIAS DIOS MÍO POR TODAS TUS BENDICIONES.!

***DOBLE TRASPLANTE CON CÉLULAS
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS: UNA
ALTERNATIVA EN
ADULTOS***

INDICE

Incice.

Introducción.

I Generalidades.

II Historia del trasplante con células progenitoras hematopoyéticas

III Sangre de cordón umbilical como fuente de células progenitoras hematopoyéticas para trasplante.

IV Trasplante de SCU en niños.

V Trasplante de SCU en adultos.

VI Proceso de BSCU.

VII Objetivo.

VIII Material y métodos.

IX Resultados.

X Análisis de resultados.

XI Conclusiones

XII Lista de Abreviaturas

Bibliografía

LISTA DE ABREVIATURAS

AAG, anemia aplásica grave

ADN, ácido desoxiribonucleico

AgsHB , antígeno de superficie de la hepatitis B

Amp-FLPs, polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificables

BCU, banco de cordón umbilical

BSCU, banco de sangre de cordón umbilical

CFM, ciclofosfamida

CFU- Meg, unidad formadora de colonias de megacariocitos

CFU-E, unidad formadora de colonias eritroides

CFU-GEMM, unidad multipotencial formadora de colonias de granulocito-eritrocito-macrófago – megacariocito

CFU-GM, unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos

CMN, células mononucleadas

CMV, citomegalovirus

CNT, células nucleadas totales

CNTS, Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea

CordMX, Programa Nacional de Sangre Placentaria

CPDA, anticoagulante que tiene: adenina, dextrosa, fosfato, citrato

CPH-CU, células progenitoras hematopoyéticas de cordón umbilical

CPHs, células progenitoras hematopoyéticas

CTA, células troncales del adulto

CTH, células troncales hematopoyéticas

DMSO, dimetil sulfóxido

EICH, enfermedad injerto contra h esped

ELISA, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

EMR, enfermedad mínima residual

EVO, enfermedad veno oclusiva

FISCH, técnicas de hibridación in situ fluorescente

FI, fallo de injerto

G0, fase del ciclo celular

G-CSF, factor de estimulación de colonias granulocitarias

GLP, prácticas correctas de laboratorio

GMP, buenas prácticas de manufactura

GTP, prácticas correctas relativas a tejidos

GVM, injerto contra neoplasia maligna o injerto contra tumor

GY, gray

HLA, antígenos Leucocitarios Humanos

ICT, irradiación corporal total

Ig, inmunoglobulinas

IL, interleucinas

JACIE, The Joint Accreditation Committee-ISCT & EBMT

Kb, kilobases

LINES, secuencias esparcidas largas

LPS, lipopolisacárido

LT-HSC, células madre hematopoyéticas de largo plazo

MHC, complejo principal de histocompatibilidad

MO, médula ósea

N₂, nitrógeno

NAT, técnicas de amplificación de ácidos nucleicos

NETCORD-FACT, International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and Relea.

NK, natural killer

PCR, reacción en cadena de la polimerasa

PCR-SBT, reacción en cadena de la polimerasa con tipaje basado en secuenciación

PCR-SSO, reacción en cadena de la polimerasa con oligonucleótidos de secuencia específica

PCR-SSP, reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencia específica

QC, quimerismo completo

QM, quimerismo mixto

RA, recuperación autóloga

RCT, radiación corporal total

RFLP, polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción

Rh, factor Rhesus

SCU, sangre de cordón umbilical

SINES, secuencias esparcidas cortas

SP, sangre periférica

ST-HSC, células madre hematopoyéticas de corto plazo

STR, repeticiones cortas en tándem

TA, trasplante alogénico

TACPH, trasplante alogénico de células hematopoyética

Tc, linfocitos T citotóxicos

Th, linfocitos T colaboradores o helper

TMO, trasplante de médula ósea

TMOA, trasplantes con médula ósea alogénica

TNF, factores de necrosis tumoral

TSCU, trasplante de sangre de cordón umbilical

UFC, unidades formadoras de colonia

VHC, virus de la hepatitis C

VIH, virus de la inmunodeficiencia humana

VNTR, numero variable de repeticiones en tándem

INTRODUCCIÓN

El trasplante de sangre de cordón umbilical (SCU) de donante no emparentado, consiste en la infusión de progenitores hematopoyéticos obtenidos de la sangre del cordón umbilical, los cuales son sometidos a actividades de recolección, procesamiento, criopreservación y almacenamiento, en los bancos de sangre de cordón umbilical y son destinados a un paciente que no cuenta con un donante compatible de medula ósea.

Las ventajas de la sangre de cordón son la disponibilidad inmediata de células, la ausencia de riesgo para el donante, baja necesidad de compatibilidad del antígeno de histocompatibilidad entre el donante y el receptor y bajo riesgo de enfermedad injerto contra huésped.

La eficacia del trasplante de sangre de cordón desde el punto de vista de CordMX (CNTS) consiste en llevar hasta el enfermo las mejores unidades para trasplante en condiciones funcionales óptimas, para poder lograr el injerto y la consecuente regeneración medular. Para conseguir este objetivo CordMx cuenta con unidades de SCU que cumplen con controles que verifican la calidad funcional del producto (calidad hematopoyética) y con controles destinados a la seguridad del receptor (calidad transfusional).

Las unidades de CordMx cumplen con todos los requisitos de NETCORD para trasplante, pero debido a que los trasplantes alogénicos de SCU para adultos o jóvenes de mayor volumen corporal está limitado por la baja dosis celular que contiene una sola unidad, es necesario compensar esta limitante con la administración de dos unidades de SCU para así lograr la dosis celular requerida por Kg de peso del receptor.

En nuestro estudio se comprobó que el éxito de injerto y supervivencia en el DTSCU en adultos y jóvenes de alto volumen corporal con unidades de CordMx, esta relacionado a muchos factores, los cuales afectan directamente el éxito o fracaso del trasplante como lo son: el tipo de acondicionamiento usado en los receptores, la toxicidad del régimen de acondicionamiento, la presencia de

infecciones, la administración de las terapias de soporte, la calidad y compromiso del centro de trasplante.

Con esto se demuestra que el fracaso del injerto de las unidades de SCU no está relacionado a la calidad hematopoyética o transfusional de las unidades de CordMx.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

CÉLULAS MADRE

A pesar de la creciente cantidad de estudios sobre el origen y las propiedades de las células troncales o células madre, todavía hoy en día no existe una definición universalmente aceptada de ellas. En principio, se definen por una serie de características que las hacen distintas del resto de las células. Dentro de ellas, las más evidentes y sobre las que se asienta la base de la definición más común de las células madre, es que son un grupo de células que forman clones, los cuales son capaces de auto regenerarse y diferenciarse en múltiples tipos de tejidos, aunque no pueden formar totalmente un nuevo ser vivo.

Este tipo de células surge durante las primeras etapas del desarrollo embrionario que, al diferenciarse, forman gran número de estirpes celulares que constituyen los tejidos del embrión.

La primera propiedad de las células madre es la capacidad de dividirse de un modo continuo y prácticamente ilimitado, dando lugar a hijas que son exactamente iguales a la madre. La segunda característica, la pluripotencialidad, indica la capacidad de diferenciarse a cualquier tipo o linaje celular del organismo.¹

Las células madre se clasifican en base a su grado de pluripotencialidad o diferenciación y según su origen. No obstante, ambas clasificaciones están relacionadas, ya que según su origen tendrán mayor o menor capacidad de diferenciación.

La clasificación según su origen se divide en: células troncales embrionarias y células troncales adultas y la clasificación según su pluripotencialidad se divide en: totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales y unipotenciales.

CÉLULAS TRONCALES EMBRIONARIAS

Proceden de embriones antes de su implantación que se encuentran en la fase de blastocito. En ellos hay una masa de unas 130 células, que se encuentran en su

interior, y que se denominan masa celular interna. Esta masa celular, cuando se aísla y se consiguen cultivar origina a las células troncales embrionarias.²

Estas células son indiferenciadas o no-especializadas, pueden dividirse indefinidamente en un cultivo y convertirse en células diferenciadas o especializadas y pueden dar origen a todos los tipos celulares del cuerpo.³ Por esta razón las células troncales embrionarias son llamadas pluripotentes. Aunque derivan de un embrión muy temprano, ellas no son por sí solas un embrión, ni pueden bajo ninguna circunstancia dar origen por sí solas a un organismo entero. Estas células tienen la potencialidad de permitir la reparación permanente de órganos con fallas inyectando células funcionales sanas derivadas de ellas, lo que se conoce como medicina regenerativa.⁴

CÉLULAS TOTIPOTENCIALES

Son las células más primitivas, producto inmediato de la fecundación y con capacidad de diferenciarse hacia todos los tejidos que forman los órganos de un individuo así como el trofoblasto (que dará lugar a la placenta), los tejidos extraembrionarios y el cordón umbilical. Este tipo de células solo están presentes en el embrión en los primeros estadios de división.

CÉLULAS PLURIPOTENCIALES

Se desarrollan aproximadamente en el cuarto día de la fertilización y pueden diferenciarse a cualquier tipo celular, excepto las células totipotenciales y de la placenta.

Se han descrito tres tipos de células pluripotentes:

- Células troncales embrionarias.
- Células troncales germinales: Derivan de las células germinales primordiales, procedentes de las futuras gónadas que son los precursores sexuales, que en un embrión humano se desarrollan entre las semanas cinco y nueve.
- Células embrionarias cancerosas, las cuales se aíslan de teratocarcinomas, es decir, de tumores ocurridos en el feto. Todas estas células se pueden aislar solamente de tejido embrionario o del feto mismo. Se pueden hacer crecer en medio de cultivo y se puede prevenir su diferenciación en células específicas (neuronas, piel, músculos, etc.) mediante tratamientos específicos.

CÉLULAS TRONCALES DEL ADULTO (CTA)

Las células madre adultas se encuentran en los organismos completamente desarrollados y pueden dividirse en dos grandes grupos:

- Células troncales unipotentes.
- Células troncales multipotenciales.

Las células adultas son las únicas utilizadas hasta el momento en diversos tratamientos.

Las células madre o hematopoyéticas de médula ósea son las más conocidas y empleadas en la clínica desde hace tiempo.⁹

La propiedad de las CTA es que pueden dividirse simétrica o asimétricamente, para producir una célula troncal idéntica y una célula progenitora parcialmente comprometida; esta última, aún cuando no esté totalmente diferenciada, tendrá una capacidad restringida de desarrollo. Por ello se toma a las CTA como tejido-específicas, capaces de originar sólo células progenitoras correspondientes a su tejido de origen.

CÉLULAS TRONCALES UNIPOTENTES

Son líneas celulares bastante comprometidas que se diferencian en un único tipo celular o tejido.

CÉLULAS TRONCALES MULTIPOTENCIALES

Son capaces de originar distintos tipos celulares y se encuentran en circulación periférica de un recién nacido, que pueden ser recuperadas de sangre de placenta colectada de cordón umbilical y están presentes en tejidos adultos. Se encuentran en la cima de la jerarquía celular y proliferan para producir células diferenciadas que formarán los distintos tipos de células que se encuentran en un tejido determinado u órgano. Es importante aclarar que estas células, una vez desarrolladas, se autorrenuevan durante toda la vida del individuo, a diferencia de las células troncales totipotenciales y pluripotenciales, que sólo se encuentran durante la etapa embrionaria.

En los organismos adultos, in vivo, las células troncales multipotenciales pueden dividirse repetidamente para repoblar un tejido, como las células troncales hematopoyéticas multipotenciales de la médula ósea, que dan origen a todas las células del sistema hematopoyético (eritrocitos, leucocitos y plaquetas).¹⁰

CÉLULAS TRONCALES HEMATOPOYÉTICAS (CTH)

Estas células tienen dos características funcionales que las distinguen: son capaces de auto-renovarse (donde al dividirse, por lo menos una de las células hijas conserva las propiedades de la célula madre) y son multipotenciales (pueden dar origen a los distintos linajes sanguíneos). Las CTH corresponden al 0.01% del total de células nucleadas presentes en la médula ósea.

Las CTH dan origen a células progenitoras hematopoyéticas (CPH), las cuales han perdido su capacidad de auto-renovación, pero conservan su potencial proliferativo. Éstas pueden ser multipotenciales, o bien, pueden estar restringidas a dos (bipotenciales) o a un solo linaje (monopotenciales).

Las CPH constituyen a <0.5% del total de células de la médula ósea; 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 al linaje al que pertenecen.¹¹

Las células precursoras constituyen la gran mayoría de las células de la médula ósea (>90% de las células hematopoyéticas residentes en la cavidad medular). Finalmente, los precursores hematopoyéticos al madurar, generan a las células sanguíneas circulantes.¹²

De acuerdo con el modelo de la hematopoyesis, el proceso de maduración de las células sanguíneas en médula ósea comienza con un reducido grupo celular denominado "células madre hematopoyéticas de largo plazo" (long-term hematopoietic stem cells, LT-HSC). Las LT-HSC son necesarias para el mantenimiento del sistema hematopoyético durante toda la vida de un organismo, y dan origen a otro grupo celular denominado "células madre hematopoyéticas de corto plazo" (short-term hematopoietic stem cells, ST-HSC), las cuales se caracterizan por su mayor cantidad, por entrar más fácilmente al ciclo celular y dar origen a los progenitores comprometidos en la hematopoyesis.¹³

Las CTH son capaces de generar todas las clases de CPH y de células maduras de los dos linajes principales de células hematopoyéticas: mieloide y linfoide.

Las células linfoides maduras son los linfocitos B, los linfocitos T y las células natural killer (NK). Las células mieloides incluyen distintos tipos de células morfológica, fenotípica y funcionalmente diferentes como son: los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), monocitos, macrófagos, eritrocitos, megacariocitos, plaquetas y mastocitos.

Las células mieloides son producidas a través de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que las linfoides son resultado de la linfopoyesis.¹⁴

La mayoría de las CTH expresan el antígeno CD34, una glicoproteína de membrana que se expresa en la superficie de las células progenitoras hematopoyéticas, así como algunas células endoteliales y del estroma medular.

Estudios recientes sobre la composición bioquímica y estructural de la molécula CD34, incluido el de la secuencia de los aminoácidos y carbohidratos que la componen, han revelado que este antígeno es una molécula altamente glicosilada y ácida (punto isoeléctrico menor a 4.0), y su peso corresponde a 110.000 daltons. Otros experimentos indican que CD34 es una fosfoproteína, puesto que los procesos relacionados con fosforilación están involucrados como un mecanismo que regula el funcionamiento de las glicoproteínas de superficie y de los receptores de los factores de crecimiento, lo cual podría dar una clave del papel del CD34 como un regulador de los procesos hematopoyéticos.

La frecuencia de las células troncales hematopoyéticas CD34+ en médula ósea se ha estimado entre 1% y 3% de las células mononucleares, en tanto que en sangre de cordón umbilical esta población oscila entre 0,2% y 1%.

Las células CD34+ derivadas de sangre de cordón umbilical tienen una mayor capacidad clonogénica, proliferan más rápidamente en respuesta a la estimulación con citocinas y generan, aproximadamente, siete veces más progenitores que la misma población presente en médula ósea bajo condiciones in vitro.¹⁵

Las células CD34+ derivadas de sangre de cordón umbilical son capaces de generar gran cantidad de células maduras en cultivo sin reducir el número de células CD34+ en el mismo, mientras que las células CD34+ de médula ósea adulta disminuyen en el cultivo a medida que producen células maduras, lo que indica que las células primitivas que provienen de la médula ósea pierden su capacidad de autorrenovación in vitro.

Las células CD34+ pueden formar:

- CFU-E
- CFU-GM
- CFU- Meg
- CFU-GEMM

La sangre de cordón umbilical de recién nacidos a término y pretérmino contiene un número significativo de CPH con un mayor potencial de formar colonias in vitro que la sangre periférica de adultos; el potencial de diferenciación y proliferación de las unidades formadoras de colonia de granulocitos, eritroides, monocitos y megacariocitos (Colony Forming Unit-Granulocyte, Erythroid, Monocyte, Megakaryocyte, UFCGEMM) también es mayor en la sangre de cordón umbilical de recién nacidos que en la sangre periférica de adultos.¹⁵

TRASPLANTE DE CPH

El trasplante de CPH consiste en la infusión al paciente de CNT (aproximadamente, 1.8×10^7 por kg de peso del paciente, obtenidas de la médula ósea, de la sangre periférica o del cordón umbilical, con la finalidad de restaurar la hematopoyesis en personas que padecen enfermedades hematológicas tanto benignas como malignas así como padecimientos de origen genético o déficit inmunológicos. A pesar de este rescate hemopoyético, existirá un período de aplasia medular (2-3 semanas) hasta que las células infundidas implanten y comiencen a producir células sanguíneas. La recuperación de eritrocitos, de neutrófilos y de plaquetas se inicia a partir de los precursores mieloides maduros y se mantiene a lo largo de la vida del paciente gracias a los progenitores más inmaduros que se trasplantan de estas células para facilitar la recuperación del número de células sanguíneas.¹⁶

INDICACIONES DEL TRASPLANTE DE CPH

Para tratar el cáncer de la sangre se utilizan medicamentos de quimioterapia y terapia con radiación. La quimioterapia y la radioterapia afectan, por lo general, las células que se dividen rápidamente por eso este tipo de terapia se utiliza para tratar el cáncer porque las células cancerosas se dividen con mayor frecuencia que la mayoría de las células sanas. Sin embargo, dado que las células de médula ósea también se dividen a menudo, los tratamientos de dosis alta pueden dañar gravemente o hasta destruir la médula ósea del paciente.

Los trasplantes de células troncales de médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón umbilical reemplazan las células madre que se destruyen con el tratamiento. Cuando las células madre sanas se trasplantan, pueden restaurar la capacidad de la médula ósea de producir las células sanguíneas que el paciente necesita.

En enfermedades no cancerosas de la sangre se puede desarrollar una escasez de células madre de la sangre, como ocurre en las anemias o trastornos inmunes que ponen en peligro la vida. En todos estos casos, un trasplante de células madre de la sangre puede restaurar la hematopoyesis normal ya que sin una médula ósea sana, el paciente ya no podrá crear más células sanguíneas, las cuales se necesitan para transportar oxígeno, luchar contra la infección y evitar las hemorragias.

ENFERMEDADES EN LAS QUE SE UTILIZA ESTA VARIEDAD TERAPÉUTICA

ENFERMEDADES DE INMUNODEFICIENCIA

Los niños que nacen con deficiencias graves de las células inmunitarias son incapaces de producir linfocitos, que son las células que ayudan al cuerpo a combatir las infecciones. Ante la ausencia de linfocitos normales y de función inmunitaria, estos niños pueden sufrir reiteradas infecciones que a menudo son potencialmente mortales. Los linfocitos (descendientes de células madre) pueden ser restablecidos mediante un trasplante de células madre. De hecho, el trasplante es ayudado por la insuficiencia de células inmunitarias del receptor, ya que dicha deficiencia hace que sea poco probable que el receptor rechace las células madre del donante. Por lo tanto, el receptor del trasplante por insuficiencia de células inmunitarias no requiere un tratamiento intensivo previo (acondicionamiento) con radiación ni quimioterapia para deprimir el sistema inmunitario.

Como ejemplo de estas inmunodeficiencias tenemos:

- Síndrome de Wiskott Aldrich.
- Síndrome de inmunodeficiencia combinada grave.

ENFERMEDADES HEREDITARIAS GRAVES DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

El trasplante de CPH se utiliza en el tratamiento de trastornos sanguíneos hereditarios, incluyendo la talasemia y la anemia drepanocítica. En estos trastornos se hereda un gen mutante que se manifiesta únicamente en las células que elaboran la sangre. En este caso, el trasplante es una forma de terapia genética: las células madre elaboradoras de sangre genéticamente anormales son sustituidas con células que funcionan con normalidad.

ANEMIA APLÁSICA

Este tipo de insuficiencia de la médula ósea, denominado anemia aplásica, puede ser inducido por fármacos, autoinmunitario o, más excepcionalmente, hereditario.

Como resultado de la exposición a determinados fármacos o a un agente tóxico externo, tal como una sustancia química o una exposición no intencional a la radiación, puede ocurrir una falla medular.

Un ataque autoinmunitario de los linfocitos del paciente sobre las células que elaboran la sangre en la médula ósea también puede causar una falla. Si la enfermedad es grave, la médula ósea deja de elaborar células sanguíneas. Esta alteración conduce a un riesgo de hemorragia grave a causa de una insuficiencia de plaquetas o por reiteradas infecciones potencialmente mortales a causa de una insuficiencia de glóbulos blancos.

LEUCEMIA, LINFOMA Y MIELOMA

La leucemia, el linfoma y el mieloma agudos se curan en relación a la cantidad de quimioterapia administrada al paciente por lo que se requieren grandes dosis de quimioterapia y/o radioterapia para destruir las células de la enfermedad. Debido a esto la capacidad de la médula ósea de producir células sanguíneas sanas resulta tan intensamente dañada, que pocos pacientes sobrevivirían dichos tratamientos sin sustitución de la médula ósea.

Los médicos emplean el trasplante de células madre para poder administrar dosis más altas de quimioterapia o radioterapia y restablecer la producción normal de células sanguíneas.¹⁷

TIPOS DE TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

✓ SEGÚN EL TIPO DE DONANTE

- Autogénico o autólogo o autotrasplante.
- Singénico o isogénico.

- Alogénico:
 - a) Emparentado: donante familiar, habitualmente HLA idéntico.
 - b) Familiares parcialmente compatibles.
 - c) No emparentado: donante no familiar, no HLA idéntico.
- ✓ **SEGÚN LA PROCEDENCIA DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**
 - Trasplante de médula ósea.
 - Trasplante de progenitores obtenidos de sangre periférica.
 - Trasplante de progenitores obtenidos a partir de sangre de cordón umbilical.

SEGÚN EL TIPO DE DONANTE

AUTÓLOGO

Este tipo de trasplante consiste en obtener células progenitoras hematopoyéticas movilizadas del propio paciente obtenidas de la SP por medio de procedimientos de aféresis, conservarlas y reinfundirlas después de administrar dosis de quimioterapia y/o radioterapia ablativa. En la actualidad es el tipo de trasplante más utilizado.

Ventajas:

- No requiere la búsqueda de un donante.
- Menor toxicidad relacionada con el procedimiento.
- Se puede realizar a pacientes de mayor edad (60 - 65 años).
- No existen las complicaciones indeseables de EICH.
- Permite la realización de consolidación en los tumores sólidos, en el momento en que la masa tumoral es menor.
- Se necesita un número menor de células para la reconstrucción medular que en el trasplante alogénico.
- Es una opción en pacientes que no pueden recibir un trasplante alogénico.

Desventajas:

- Las células recolectadas pueden tener una calidad deficiente.
- Existe el riesgo de contaminación con células tumorales, aunque es menor con el uso de SP.
- Mayor frecuencia de fallo en la recuperación medular debido a defectos en el microambiente medular, influido por la enfermedad de base y/o los tratamientos previos.
- Aumento del porcentaje de recaída por enfermedad mínima residual y no existencia de efecto injerto contra leucemia.

SINGÉNICO O ISOGÉNICO

En este caso el donante y el receptor son gemelos idénticos, con idéntica estructura genética y el mismo tipo de tejido. Con este tipo de trasplante, las células del donante no son rechazadas y los tejidos del receptor no son atacados por las células inmunitarias (linfocitos) del donante.

Ventajas:

- Poca o ninguna posibilidad de EICH.
- No necesita inmunosupresión.

Desventajas:

- No-efecto injerto contra tumor.
- Mayor posibilidad de recaídas.

ALOGÉNICO

Se lleva a cabo entre individuos de una misma especie. El procedimiento implica la infusión de CPH de un donante sano a un paciente que se ha sometido a un tratamiento de acondicionamiento, administrado previamente, con el fin de erradicar las células neoplásicas y la capacidad de respuesta inmune del receptor, para evitar un rechazo del injerto una vez infundido. La principal limitación para la realización de este tipo de trasplante es la disponibilidad de un donante familiar HLA compatible. Sin embargo, los avances obtenidos en los últimos años en el campo de la inmunología y la biología molecular, así como la creación de registros de donantes de médula y bancos de sangre de cordón, han

permitido ampliar las posibilidades de encontrar donantes histocompatibles no relacionados para los pacientes que lo requieren.

A pesar de que la pareja donante-receptor sea idéntica para el sistema HLA, existen antígenos de compatibilidad menores, lo que provoca que en este trasplante exista una doble barrera inmunológica, y puede ocurrir que:

- El receptor rechace las células infundidas (rechazo del injerto).
- Las células inmunocompetentes infundidas pueden reconocer como extrañas las células del receptor, lo que se conoce como enfermedad injerto contra huésped (EICH).

Ventajas:

- Se trasplantan CPH sanas.
- Efecto injerto contra tumor.

Desventajas:

- Restringido a una minoría (posibilidad de donante, grupos étnicos, edad).
- Posibilidad de EICH.
- Mayor rechazo.
- Necesidad de inmunosupresión más severa.

ESTE TIPO DE TRASPLANTE COMPRENDE LAS SIGUIENTES VARIANTES:

EMPARENTADO (HERMANOS HLA-IDÉNTICOS)

Cuando el donante es un familiar HLA idéntico se denomina trasplante alogénico de hermano HLA idéntico; ya que cada persona hereda un haplotipo de cada uno de sus progenitores; por ello, la posibilidad teórica de disponer de un hermano HLA idéntico es del 25 %. Es el tipo de donante ideal. Actualmente la mayoría de los trasplantes alogénicos se hacen con este tipo de donante.

FAMILIARES PARCIALMENTE COMPATIBLES

Cuando el donante es un familiar que comparte un solo haplotipo del sistema HLA se denomina trasplante haploidéntico, y el donante es un familiar cualquiera (padre, madre, hermanos, primos...) que comparte sólo la mitad de los genes implicados en el sistema HLA. Este tipo de trasplante es la opción para los pacientes que no cuentan con un familiar

HLA idéntico y la ventaja más significativa de este trasplante es la mayor disponibilidad, por lo que un donante está disponible en el 90 % de las veces. La mayor desventaja es el aumento del riesgo y severidad de la EICH aguda y crónica, y aunque la depleción de linfocitos T puede disminuir esta complicación, no se han obtenido resultados totalmente satisfactorios con este procedimiento.

NO EMPARENTADO (DONANTE NO FAMILIAR, NO HLA IDÉNTICO)

Cuando el donante es un donante no emparentado se denomina trasplante de donante no emparentado.

En la actualidad, el 25 % de los trasplantes alogénicos son de este tipo. A pesar de la cantidad de donantes disponibles en el registro internacional, es difícil encontrar uno para muchos pacientes, particularmente para las minorías étnicas y raciales.

Se deben tener en cuenta algunas observaciones previas al inicio de una búsqueda internacional de donantes no emparentados o no relacionados, y entre ellas están las siguientes:

- Confirmar que en el estudio de los familiares no existe algún donante compatible.
- Valorar los riesgos y beneficios de este tipo de trasplante frente a otras opciones como el autotrasplante y la quimioterapia.

Ventajas:

- Amplía la posibilidad de donantes.
- Mayor efecto injerto contra leucemia.

Desventajas:

- Riesgo aumentado de FI (5 -10 %).
- Aumento de la frecuencia y severidad de la EICH (80 %).
- Mayor frecuencia de infecciones.
- Tiempo de demora en la búsqueda del donante.
- Alta toxicidad del régimen de acondicionamiento.
- Riesgo de infecciones fatales.
- Reconstitución inmune demorada o incompleta.

PARA SELECCIONAR UN DONANTE NO RELACIONADO, SE DEBEN TENER PRESENTES ALGUNAS PREMISAS:

- Estudio del HLA clase I (A,B,C) y HLA clase II DR β 1 y DQ β 1, por técnicas moleculares.
- Utilización de donantes con una sola disparidad molecular en clase I o clase II.¹⁸

SEGÚN LA PROCEDENCIA DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**MÉDULA ÓSEA**

La médula ósea es un material blando parecido a una esponja que se encuentra en el interior de los huesos, contiene CPH que se identifican con el anticuerpo monoclonal CD34. Las células que expresan el antígeno CD34 se encuentran en una proporción del orden de 1.5% de las células mononucleadas (CMN), constituyendo una población muy heterogénea que incluye células con capacidad de reconstitución medular sostenida a largo plazo, todos los tipos de células formadoras de colonias y los precursores mieloides y eritroides más inmaduros.¹⁹

Los trasplantes de médula ósea reemplazan las células madre que se destruyen con tratamientos contra el cáncer. Cuando las células madre sanas se trasplantan, pueden restaurar la capacidad de la médula ósea de producir las células sanguíneas que el paciente necesita.

La recolección de médula ósea es relativamente simple y, por lo general, se realiza en la sala de cirugía. Durante una recolección de médula ósea, el paciente recibe anestesia general y entonces el cirujano inserta una aguja larga, directa en la cavidad de la médula ósea del hueso en la espalda baja después de que se esterilizó el área. La médula ósea es aspirada o succionada del hueso mediante la inserción de la aguja varias veces en el hueso. La recolección típica de médula ósea toma cerca de dos horas, e involucra la extirpación entre 500 y 1000 ml de sangre medular, que contiene células madre. El mayor efecto secundario de este procedimiento es la molestia en el sitio donde se recolecta la médula ósea. Las complicaciones menos frecuentes podrían ser sangrado, infección y lesión del nervio.²⁰

La médula ósea que se recolecta, se procesa para extraer la sangre y los fragmentos de hueso, ésta se puede combinar con un preservante y congelarse para mantener las células madre vivas hasta cuando se necesiten.²¹

Es importante recolectar las células madre antes del tratamiento con dosis altas de quimioterapia de manera que las células madre puedan reinfundirse para “rescatar” a la médula ósea y estimular la producción de células sanguíneas.²⁰

Existen dos tipos de células troncales que se pueden aislar de la médula ósea: las troncales hematopoyéticas y las troncales mesenquimiales. Para separar dichas células se emplean paquetes comerciales que utilizan perlas magnéticas, en éstas varía el tipo de anticuerpos que se utilicen para marcar las células.¹⁰

SANGRE PERIFÉRICA

Las células que expresan el antígeno CD34 en la SP se encuentran en una proporción del orden de menos del 0.1 % de las CMN.¹⁹ En general, en cualquier momento dado, hay una célula madre sanguínea circulando en el torrente sanguíneo de una persona por cada 100 presentes en la médula ósea.²²

Las células madre de sangre periférica utilizadas en los trasplantes provienen del torrente sanguíneo y para recolectarlas se utiliza un procedimiento llamado aféresis o leucoféresis.²³ Cuatro o cinco días antes de la aféresis, se administra al donante un medicamento llamado factor de estimulación de colonias granulocitarias (G-CSF) como las citocinas. La inyección de citocinas estimula el incremento de células madre maduras e inmaduras en la médula ósea de hasta 100 veces y también ayuda a la movilización de las células troncales de médula ósea, que aparecerán de tres a cinco días después en la sangre periférica; después para obtener las células troncales se realiza la aféresis en la cual se extrae la sangre por una vena principal del brazo o por un catéter venoso central (un tubo flexible que se coloca en una vena principal del cuello, pecho o ingle). La sangre pasa por una máquina que separa las células madre. La sangre que queda se regresa al donante y las células recolectadas se guardan. La aféresis toma, por lo general, de 4 a 6 horas. Las células madre se congelan entonces hasta que se infunden en el receptor.

La obtención de células madre hematopoyéticas a partir de sangre periférica ha sustituido la obtención de células troncales de médula ósea para trasplantes en humanos, debido a que

constituye un procedimiento más sencillo y menos doloroso para el paciente.^{10, 24}

CÉLULAS DEL CORDÓN UMBILICAL

Las células que expresan el antígeno CD34 en la sangre de cordón umbilical se encuentran en una proporción del orden de menos del 0.2 - 1.0% de las células mononucleadas (CMN).¹⁹

Las células sanguíneas contenidas en el cordón umbilical tienen dos cualidades de especial relevancia: una concentración relativamente elevada de células progenitoras hematopoyéticas de gran capacidad proliferativa y una gran tolerancia en la respuesta inmune, como posible consecuencia de la tolerancia mutua feto-materna y la falta de contactos previos con antígenos externos.²⁵

La capacidad de multiplicarse de las células madre de cordón es mayor que el de otros tipos de células madre adultas debido a que son más inmaduras.¹⁹ Estas características convirtieron la sangre del cordón umbilical en una fuente de células hematopoyéticas de gran utilidad en trasplantes.

La obtención de células troncales de la sangre del cordón umbilical se efectúa después del parto; con este propósito, se utiliza el extremo del cordón unido a la madre, mientras la placenta sigue dentro del útero. Para drenar la sangre se ejerce presión sobre el cordón y se recolecta el contenido en un recipiente estéril que contiene CPD-A como anticoagulante.¹⁰

Para separar las CPH (CD34+) se utiliza equipo automatizado (Sepax, BioSafe) que permite la remoción de plasma y el paquete globular.²⁶

HLA

El trasplante alogénico de CPH se acompaña de una reacción inmunológica recíproca del injerto hacia el nuevo recipiente y del recipiente hacia el injerto,²⁷ ésta respuesta es estimulada por diferencias tanto del donador como del receptor en sus antígenos mayores y menores de histocompatibilidad, esto está mediado por antígenos leucocitarios humanos (HLA) ubicados en el MHC, por sus siglas en inglés.²⁸

El MHC está constituido por un conjunto de genes que controlan la expresión de proteínas plasmáticas que forman parte del sistema del Complemento (C4, Bf, C2) y de proteínas de membrana que actúan como elementos de restricción en la respuesta inmune,

proporcionando el contexto para el reconocimiento antigénico por los linfocitos T. Este sistema parece estar presente en todos los vertebrados y aún en los invertebrados, lo que revela un origen temprano en la evolución de las especies y es en gran parte responsable del rechazo al trasplante de tejidos y en general de la discriminación entre lo propio y lo extraño. El MHC controla la expresión de tres clases distintas de moléculas (Clase I, Clase II y Clase III) agrupadas sobre la base de su distribución tisular o plasmática y de su estructura y función.²⁹

La función fisiológica de las moléculas HLA es la de procesamiento y presentación de péptidos antigénicos a los linfocitos Tc y Th.

El sistema HLA está constituido por 224 genes aproximadamente. Estos genes y pseudogenes están localizados en el brazo corto del cromosoma 6 dentro de la banda 6p21.3, que representa casi 2.5% de la longitud total del cromosoma 6 donde abarca alrededor de 4 megabases. Los genes HLA se encuentran distribuidos en 3 regiones, clase II (centromérica), clase III y clase I (telomérica).

REGIÓN DE CLASE I

Constituido por tres genes clásicos (HLA-A, HLA-B y HLA-C), tres no clásicos (HLA-E, HLA-F y HLA-G), dos genes relacionados a cadenas MHC clase I MICA y MICB, y 15 pseudogenes.³⁰ Los genes clase I sintetizan las moléculas de clase I del MHC,³¹ estas moléculas de Clase I son glicoproteínas de superficie que se expresan en la membrana de las células nucleadas y corresponden a los Antígenos Mayores de Histocompatibilidad y actúan como elementos de restricción en el reconocimiento antigénico por los linfocitos Tc y presentan péptidos preferentemente a los linfocitos CD8.²⁹ Estas moléculas están formadas por una cadena pesada alfa constituida por 3 dominios y unida a ella en forma no covalente la Beta 2 microglobulina.

CLASE II

La región clase II posee al menos 23 genes, codifica los antígenos HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP, los transportadores de péptidos (TAP1 y TAP2) y los proteasomas (LMP2 y LMP7).³⁰ La expresión de los genes clase II se restringe sólo a las células del sistema inmunológico, estos genes se distinguen por ser sumamente polimorficos.²⁷ Estos genes sintetizan las moléculas de clase II del MHC. Las moléculas de Clase II son glicoproteínas

integrales de la membrana plasmática de ciertas células inmunocompetentes (linfocitos B, linfocitos T, macrófagos, monocitos, y en general células presentadoras de antígeno) y actúan como elementos de restricción en el reconocimiento antigénico por los linfocitos Th.²⁹ Son moléculas constituidas por 2 cadenas pesadas, una alfa y otra beta con dos dominios en cada cadena

Las moléculas HLA clase II presentan péptidos preferentemente a los linfocitos CD4.³²

CLASE III

Constituido por genes que codifican para gran variedad de proteínas importantes en la inmunidad, como son los componentes del complemento (C2, C4A, C4B y Bf), los (TNF α y TNF β), las proteínas de choque térmico (HSP-70 y GP) y la enzima 21-hidroxilasa.³⁰

Se localiza en el cromosoma 6 y lo constituyen 4 mega bases con más de 200 genes.²⁷

Los genes para los antígenos de "lo propio" o MHC se transmiten de una generación a la siguiente en una agrupación conocida como haplotipo. Un haplotipo es una combinación de genes--alelos HLA, que se localizan agrupados muy cercanamente en el mismo cromosoma y tienden a ser heredados juntos. Seis genes importantes para los antígenos leucocitarios humanos son aportados por cada uno de los padres. De esa manera, cada persona hereda un juego doble de seis genes principales que producen seis antígenos correspondientes principales, HLA-A, -B, -C, -DP, -DQ y -DR. Debido a que ciertos haplotipos son heredados entre los hermanos más frecuentemente que lo simplemente esperado al azar, hay de un 25 a un 30 por ciento de probabilidad de encontrar un apareamiento 6/6 en una familia. Si un antígeno es mal apareado, es un apareamiento 5/6, lo cual los clínicos aceptarán debido a que aumenta las probabilidades de encontrar a un donador. Cuando los médicos aceptan un apareamiento 4/6, la probabilidad de encontrar un donador aumenta aún más.

Algunos antígenos del MHC del donador son más antigénicos que otros, lo cual significa que ellos son mejores para desencadenar una reacción inmune no deseada en el paciente que recibe el trasplante. Estudiando casos exitosos de trasplantes de células madre (troncales) de la sangre, los médicos han identificado los tres antígenos más importantes que se deben aparear cuando se elige a donadores "extraños" para un trasplante. El aparear estos antígenos ayuda a minimizar las probabilidades de que se presenten ataques

de injerto vs. Huésped, o de huésped vs. injerto. Los antígenos son HLA-A, HLA-B y HLA-DR.

Un apareamiento ideal de antígeno 6:6, conocido como un "apareamiento clínico", significa que ambos juegos de los tres antígenos leucocitarios humanos heredados "más importantes" en el donador se aparean perfectamente con aquéllos en las células del cuerpo (e inmunes) en el paciente.³³

En la actualidad los principales centros de trasplante, así como los BSCU seleccionan las unidades de SCU para un paciente basado en la tipificación de baja resolución de HLA-A,B y de alta resolución para HLA-DRB1.³⁰

En función de la tecnología empleada (PCR-SSP; PCR-SSO; PCR-SBT) puede determinarse la secuencia de las moléculas HLA con mayor o menor resolución.

Se habla de tipificación de baja resolución ó tipificación a nivel antigénico cuando sólo se determina a que equivalente serológico corresponde una determinada molécula de HLA (A*02, que se corresponde con el A2 determinado clásicamente mediante técnicas serológicas). Por convenio siempre se indica en primer lugar el gen valorado (A, B, C, DRB1, etc.), a continuación un asterisco (*) indica que ha sido analizado por técnicas de biología molecular y , finalmente dos números indican el grupo antigénico al que se corresponde . Cuando se habla de diferencias HLA antigénicas es que afectan a los dos primeros números del locus (A*02 y A*03).

La secuenciación completa de la molécula ofrece denominado tipificación de alta resolución o tipaje a nivel de alelo. En este tipo de estudios los resultados se expresan igual que en la baja resolución pero añadiendo un mínimo de dos dígitos más (A*0201) y cuando se habla de diferencias alélicas se afectan a los dos últimos números (A*0201 y A*0202).

ETAPAS DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

- ✓ **Acondicionamiento.**

- ✓ **Obtención de los precursores hematopoyéticos.**

- ✓ **Manipulación ex vivo del inóculo.**

- ✓ **Infusión de los precursores hematopoyéticos.**

- ✓ **Complicaciones del TPH.**

- ✓ **Implante o injerto.**

- ✓ **Recuperación hematológica.**

- ✓ **Reconstitución inmune**

ACONDICIONAMIENTO

La infusión intravenosa de las CPH va precedida necesariamente de un tratamiento de preparación del receptor que haga posible el injerto de las CPH. Consiste en la administración de altas dosis de quimioterapia, radioterapia, o ambas, simultánea o secuencialmente. Con el tratamiento de acondicionamiento se persiguen tres objetivos:

- ✓ La destrucción de la hematopoyesis del paciente, como requisito para dejar espacio físico para el prendimiento de las CPH infundidas.
- ✓ La anulación del sistema inmune del receptor, para evitar que rechace las células infundidas cuando estas son alogénicas.

- ✓ La erradicación de la población celular maligna cuando la enfermedad de base es una neoplasia.

La terapia de acondicionamiento consiste en administrar quimioterapia a altas o bajas dosis con o sin ICT. El tipo de acondicionamiento depende del tipo de trasplante y de la enfermedad de base.¹⁹

Las terapias de acondicionamiento usadas se basan en la enfermedad que se está tratando. Por lo general, se usan dos regímenes para el tratamiento, aunque los programas varían de un centro de trasplantes a otro: se administran varios fármacos juntos, tales como ciclofosfamida (Cytosan®), busulfano (Myleran®), citarabina (Cytosar®), melfalan (Alkeran®) o etopósido (VePesid®, VP-16), o se administra quimioterapia junto con radioterapia en todo el cuerpo.

Los fármacos y la radioterapia se administran durante la semana anterior al trasplante. La cantidad de días de tratamiento y la secuencia de administración dependen del régimen de acondicionamiento específico. Los días previos al trasplante se denominan día menos 6, menos 5, etc.; el día del trasplante (infusión de células madre) es el día cero; el día después del trasplante comienza con más 1, más 2, etc.¹⁷

LOS REGÍMENES DE ACONDICIONAMIENTO

MIELOABLATIVO

El objetivo de un trasplante alogénico de células hematopoyéticas TACPH es restaurar la hematopoyesis del enfermo, la cual se encuentra afectada por una enfermedad incurable. Por ello, durante muchos años se consideró indispensable destruir al máximo las células hematopoyéticas del paciente con quimioterapia y/o radioterapia para reemplazar al tejido sanguíneo enfermo por el sano proveniente del donador.

A este tipo de trasplante se le denominó "mieloablativo" o convencional por su agresividad y toxicidad secundaria; se reservó para enfermos jóvenes y en buenas condiciones generales, usualmente menores de 45 años. Este tipo de trasplante se asocia a daño en diversos órganos y tejidos, a dificultad para administrar efectivamente por vía oral medicamentos para prevenir o tratar la enfermedad del injerto vs huésped grado II-IV.

NO MIELOABLATIVOS

La preparación para un alotrasplante de células madre implica dosis muy altas de fármacos de quimioterapia y/o radioterapia.¹⁹ Hasta hace poco, el alotrasplante de células madre en pacientes de 55 años de edad en adelante era relativamente raro, ya que el riguroso acondicionamiento necesario previo al trasplante por lo general no era bien tolerado por estos pacientes. Por las mismas razones, los pacientes con mala salud en general, en especial aquellos con órganos internos disfuncionales, también se consideraban malos candidatos para un alotrasplante de células madre. Es por esto que los médicos a cargo de trasplantes han estado desarrollando regímenes de acondicionamiento previos al trasplante menos extenuantes que podrían ser más adecuados para una gama más amplia de pacientes.

Si bien comúnmente este nuevo procedimiento se denomina minitrasplante, el término empleado por los médicos es "trasplante no mieloablativo". Este término médico más preciso es también muy descriptivo: "mielo" es una palabra griega que quiere decir "médula" y "ablación" significa "destrucción". Por lo tanto, un trasplante no mieloablativo es un trasplante que no destruye completamente la médula afectada del paciente y que utiliza dosis reducidas de fármacos.

La eficacia de los trasplantes no mieloablativos depende de una reacción denominada injerto contra neoplasia maligna (GVM por sus siglas en inglés) o injerto contra tumor, en la cual el nuevo sistema inmunitario del receptor (originado a partir de las células madre donadas) puede destruir la mayor parte de las células cancerosas que quedan. La meta es que las células madre del donante se establezcan en la médula del receptor y produzcan linfocitos (células inmunitarias) que ataquen las células cancerosas residuales de la sangre del receptor (paciente)¹⁷ mediante citotoxicidad; en este caso los linfocitos T y los denominados asesinos son los principalmente responsables del fenómeno.³⁵

La GVM puede suceder en ausencia de una reacción injerto contra- huésped, lo que implica la existencia de un subtipo de antígenos de histocompatibilidad menor que se expresa en las células leucémicas y que son reconocidos por las células T del donador, pero que no se expresan en tejidos no hematopoyéticos susceptibles a una reacción injerto contra-huésped como los antígenos asociados con fenotipo maligno. Estos antígenos son mutacionales, como Bcr/Abl, que son tumor-específicos.²⁷

TRATAMIENTO DE SOPORTE

Tiene como finalidad facilitar el empleo de quimioterapia específica cada vez más agresiva en los protocolos actuales. Comprende terapia sustitutiva de los componentes sanguíneos, diagnóstico y tratamiento de las complicaciones infecciosas, correcto manejo de las alteraciones metabólicas, control del estado nutricional y soporte psico-social del paciente y su familia.¹⁹

OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES HEMOPOYÉTICOS

En el caso de alotrasplantes lo más habitual es obtenerlos de un BSCU.

MANIPULACIÓN EX VIVO DEL INÓCULO

Tiene diferentes objetivos , eliminar las posibles células neoplásicas en el caso del autotrasplante, eliminar los linfocitos T para reducir el riesgo de EICH, aumentar el número de precursores mediante técnicas de expansión ; en el caso de alotrasplante con incompatibilidad mayor ABO, eliminar los hematíes, separación y concentración de células CD34+.

INFUSIÓN DE LOS PRECURSORES HEMPOYÉTICOS

El proceso de infusión consiste en lo siguiente:

Luego de la administración de la alta dosis de quimioterapia, las células progenitoras hematopoyéticas son descongeladas y reinfundidas al torrente sanguíneo del paciente. Este procedimiento es denominado trasplante. El proceso de reinfusión es semejante a la de una transfusión de sangre y se realiza en la habitación del paciente. No es un procedimiento quirúrgico. Las bolsas congeladas con células progenitoras hematopoyéticas de médula ósea o de sangre periférica o sangre de cordón son descongeladas en un baño de agua caliente y después inyectadas a través del catéter venoso central a la sangre del enfermo. Generalmente la infusión tarda 15 minutos. Las CPH reinfundidas viajan a través del torrente sanguíneo para anidar en la médula ósea y comenzar a producir glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.⁴¹

Los pacientes durante el proceso de infusión son examinados a menudo para detectar signos de fiebre, escalofríos, urticaria, descenso de presión arterial o dificultades para

respirar. Los pacientes que reciben suspensiones de células madre congeladas y descongeladas pueden sufrir reacciones al criopreservante. Pueden presentarse efectos secundarios tales como dolor de cabeza, náuseas, rubor y dificultad para respirar, entre otros. Éstos generalmente pueden controlarse y es posible completar la infusión.¹⁷

EL PERÍODO INMEDIATAMENTE POSTERIOR AL TRASPLANTE

Para el segundo o tercer día después del trasplante, los efectos del régimen de acondicionamiento intensivo y la disminución de la función medular comienzan a tener efecto. Se mantiene al paciente en un entorno protegido para minimizar el contacto con agentes infecciosos.¹⁷ Las células madre viajan a la médula ósea, donde empiezan a producir nuevos glóbulos blancos, rojos y plaquetas en un proceso llamado de "prendimiento del injerto." El prendimiento de las células casi siempre tiene lugar de 2 a 4 semanas después del trasplante y el recuento absoluto de neutrófilos es el indicador comúnmente usado para valorarlo y los médicos vigilan el proceso tomando biometrías hemáticas frecuentes. Sin embargo, la recuperación completa de la función inmune toma más tiempo; hasta varios meses para los pacientes que se sometieron a un trasplante autólogo y 1 a 2 años para los pacientes que se sometieron a un trasplante alogénico o singénico. Los clínicos evalúan los resultados de varias pruebas de sangre para confirmar que se estén produciendo nuevas células sanguíneas y que el cáncer no haya regresado. La aspiración de médula ósea (extracción de una muestra pequeña de médula ósea con una aguja para que se examine al microscopio) también ayuda a los clínicos a determinar cómo está funcionando la nueva médula ósea.

Se hacen transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas periódicamente hasta que las células madre trasplantadas restablecen la función medular. El paciente es observado atentamente mediante exámenes físicos, análisis de química sanguínea, estudios de diagnóstico por imagen para asegurar que los órganos principales tales como el corazón, los pulmones, los riñones y el hígado estén funcionando con normalidad. Puede que sean necesarios periodos de alimentación intravenosa, llamada parenteral, en el caso de algunos pacientes para asegurar la ingesta nutricional adecuada a pesar de la inapetencia y la diarrea.¹⁷

COMPLICACIONES DEL TPH

En líneas generales las complicaciones del TPH se clasifican atendiendo al periodo de presentación, considerándose tres fases:

1. FASE DE ACONDICIONAMIENTO Y APLASIA MEDULAR

Dura aproximadamente unas 3 semanas (10-12 días si se utilizan progenitores de sangre periférica o hasta 4 semanas si se usa sangre de cordón umbilical), que es el tiempo que tarda en recuperarse la función medular. Las complicaciones incluyen las directamente derivadas del tratamiento de acondicionamiento y las producidas por la situación de aplasia.³⁶

EFFECTOS SECUNDARIOS DEL RÉGIMEN DE ACONDICIONAMIENTO.

El tratamiento de acondicionamiento previo al trasplante puede afectar cualquier sistema que dependa del reemplazo por células madre. En particular, las siguientes áreas del cuerpo son muy sensibles a los fármacos citotóxicos y a la radioterapia:

- Tubo digestivo: Pueden aparecer úlceras y trastornos del tubo digestivo, llagas en la boca (mucositis oral), náuseas, diarrea, calambres intestinales y úlceras rectales o anales.
- Piel: Pueden aparecer erupciones.
- Foliculos pilosos: La caída del cabello es inevitable.
- Pulmones: Son sensibles al régimen de acondicionamiento, en especial cuando hay radioterapia en todo el cuerpo después de la quimioterapia. Puede ocurrir una reacción llamada neumonitis intersticial (neumonía). Esto no indica que exista una infección pero puede ser muy grave y evitar el intercambio eficiente de oxígeno en los pulmones.
- Vasos sanguíneos: La acumulación de lesiones por quimioterapia y radioterapia puede causar pérdidas (o goteo) en los vasos sanguíneos. Las sustancias químicas liberadas por las reacciones inmunitarias que tienen lugar después del trasplante también contribuyen a este efecto, dañando las paredes de los vasos. El líquido escapa de la circulación y provoca edemas o inundación de los tejidos.

- Hígado: Los vasos sanguíneos que conducen al hígado y lo atraviesan tienen tendencia a obstruirse después de un trasplante. Este grave efecto secundario se denomina enfermedad venooclusiva (EVO) porque las venas se tapan. Este efecto es producido por los cambios tóxicos causados en el hígado por la quimioterapia y la radioterapia. Los cambios causan lesiones en el hígado, lo cual se ve reflejado en ictericia (la piel y los ojos se vuelven amarillentos) y acumulación de líquidos en el abdomen y otros sitios. A veces pueden acumularse toxinas normalmente eliminadas por el hígado, lo cual puede provocar confusión mental y somnolencia.¹⁷

INFECCIONES

Las infecciones constituyen la complicación más importante durante este primer periodo, causando la mayor parte de las muertes que se producen en la fase temprana del TPH. Son la consecuencia de la neutropenia y del daño a las barreras mucosa y cutánea producida por el tratamiento de acondicionamiento y medidas invasivas como la colocación de catéteres endovenosos, además influye la inmunodeficiencia ocasionada por la enfermedad de base y el uso de inmunosupresores en los trasplantes alogénicos.³⁶

La resultante inhibición de los glóbulos blancos, que normalmente previenen o combaten infecciones conlleva a un alto riesgo de infección oportunista, aunque los agentes causales pueden ser muchos.¹⁷

- Bacterias: Como *Pseudomona*, *Klebsiella*, *E. coli*,... aunque cada vez son más frecuentes las infecciones por Gram positivos como estafilococo, estreptococo y otros, debido a la profilaxis antibiótica (selectiva frente a Gram negativos y al uso de catéteres venosos permanentes).
- Virus: sobre todo Herpes simple.
- Hongos: *Cándida* y *Aspergillus*.
- Protozoos: *Pneumocystis jirovecii*.

La localización de las infecciones también es muy variable, siendo frecuentes la fiebre sin foco infeccioso, las infecciones de piel y mucosas, las infecciones pulmonares y gastrointestinales.

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES

Durante la fase de aplasia el paciente debe estar sometido a medidas de aislamiento estrictas para disminuir el riesgo de infecciones. Estas medidas incluyen: habitación individual esterilizada con control del aire (flujo laminar, presión positiva con filtros de alta eficiencia), medidas de aislamiento invertido para las visitas (bata, mascarilla, calzas,...), alimentación descontaminada (estéril, baja en bacterias) y lavado adecuado de manos.

Además se utilizan antibióticos profilácticos:

- Antibacterianos: Para descontaminar el tubo digestivo, protegen sobre todo de las infecciones por Gram -. Actualmente se utilizan quinolonas: norfloxacin, ciprofloxacino, levofloxacino.
- Antifúngicos: Nistatina oral para evitar las infecciones de mucosa oral, fluconazol para evitar las infecciones sistémicas.
- Antivirales: Aciclovir en pacientes con serología positiva para virus del herpes simple (VHS) con el fin de evitar las frecuentes recidivas. Ganciclovir y gammaglobulina hiperinmune para evitar infecciones por citomegalovirus en determinados pacientes de alto riesgo.
- Antiprotozoarios: Cotrimoxazol para prevenir *el Pneumocystis jirovecii*.

Una medida importante para disminuir la mortalidad por infecciones es la detección y el tratamiento precoz de las mismas, por lo que ante la aparición de fiebre aún en ausencia de foco infeccioso se debe empezar tratamiento antibiótico de amplio espectro. Esto se logra con la determinación de antígenos específicos por técnicas inmunocitoquímicas o moleculares. También ha mejorado la capacidad diagnóstica en las infecciones por aspergillus con la detección temprana de antígenos de aspergillus circulantes (antígeno galactomanano). Estos avances, junto con la aparición de antibióticos más eficaces, han contribuido a disminuir la mortalidad y han permitido la realización de trasplantes con donantes menos idóneos y en pacientes de más edad.³⁶

Los fármacos por lo general se siguen administrando hasta que reaparecen los glóbulos blancos en la sangre en cantidades suficientes como para que sea improbable la aparición de infecciones.¹⁷

COMPLICACIONES DERIVADAS DE LA APLASIA

Son las debidas a la falta de células sanguíneas hasta la recuperación hematopoyética, fundamentalmente anemia, hemorragias e infecciones. La anemia es corregida mediante la transfusión de concentrados de hematíes, en algunas situaciones se puede usar eritropoyetina para acelerar la recuperación de la serie roja. Las hemorragias pueden constituir un problema muy grave, por ello deben ser evitadas en la medida de lo posible, utilizando transfusiones profilácticas de plaquetas. Todos los productos celulares sanguíneos que se transfundan deben ser previamente irradiados para evitar la enfermedad injerto contra huésped postransfusional, que es ocasionada por los linfocitos que contiene el producto transfundido.

2. FASE POSTRASPLANTE INMEDIATA

Esta fase incluye el periodo comprendido entre la recuperación de la función medular y los 3 meses postrasplante y se caracteriza fundamentalmente por dos tipos de complicaciones: Infecciones y enfermedad injerto contra huésped.³⁶

INFECCIONES

Después del implante, los herpes virus y particularmente el CMV son los agentes patógenos más frecuentes y pueden causar cuadro de neumonía, hepatitis y colitis. También son frecuentes durante este período los gérmenes gramnegativos, el *Pneumocystis carinii* y algunas especies de *Aspergillus*.³⁷

ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED

La enfermedad injerto contra huésped (GVHD por sus siglas en inglés) es un trastorno en el cual las células madre del donador atacan el cuerpo del paciente o receptor porque las células inmunitarias del donante, en especial los linfocitos T, detectan que las células huésped son distintas a sí mismas. En el caso de trasplantes de células madre, las células del donante vigilan a las células del receptor y las atacan si encuentran variaciones importantes. Las diferencias pueden implicar las proteínas de la superficie celular que no se miden mediante la tipificación de HLA, o puede que haya diferencias sutiles en el tipo de HLA que permitan el trasplante pero causen la reacción. Excepto en el caso de gemelos

idénticos existirá algún tipo de incompatibilidad, aunque las pruebas de HLA indiquen la existencia de una similitud suficiente como para permitir un trasplante exitoso.¹⁷ Muchos pacientes sufren esta reacción, aunque varía desde apenas perceptible hasta una amenaza para la vida, y es sumamente grave en pacientes de edad avanzada. Con cada década en que aumenta la edad, la reacción ocurre con mayor frecuencia y gravedad. Este riesgo de EICH es mayor si el donante y el receptor son de distinto sexo. La EICH puede ser aguda o crónica.

GVHD AGUDA

Puede ocurrir poco después de que las células trasplantadas comiencen a aparecer en el receptor y comienza durante los primeros 90 días posteriores al trasplante.¹⁷

Es una complicación específica del trasplante de progenitores hematopoyéticos, y constituye uno de los mayores problemas del mismo. Está producida por los linfocitos T del donante tras su activación en varias fases. Las células dendríticas del receptor presentan aloantígenos en el contexto del sistema HLA, a los linfocitos Th del donante, que se activan y liberan IL-2, que a su vez activan linfocitos Tc. Éstos son los responsables del daño sobre las células del receptor que expresan antígenos HLA de clase I. Este mecanismo está reforzado por el daño tisular que produce el tratamiento de acondicionamiento, sobre todo en la mucosa digestiva, que libera antígenos celulares y lipopolisacárido (LPS). También intervienen las células NK y los macrófagos que participan en la reacción liberando citocinas. Los linfocitos T activados liberan también Interferón-g, que aumenta la expresión de antígenos HLA de clase II, lo que aumenta el estímulo a linfocitos T y NK.

Afecta fundamentalmente a 3 órganos diana:

- Piel: produce un cuadro eritematoso que suele comenzar por las palmas de las manos y las plantas de los pies pero que puede extenderse por todo el cuerpo, produciendo una eritrodermia generalizada, con aparición incluso de ampollas.
- Hígado: produce una ictericia obstructiva, con importante aumento de la bilirrubina y discreto aumento de transaminasas.
- Intestino: aparición de diarreas acuosas.

GVHD CRÓNICA

Generalmente ocurre después del tercer mes posterior al trasplante, y puede que no se desarrolle hasta un año o más después del trasplante. Los pacientes de edad avanzada son más propensos a padecer EICH crónica y es más probable que ocurra en pacientes que previamente sufrieron una EICH aguda.

En la EICH se sufren los siguientes problemas:

- En la piel, puede aparecer una erupción y picazón, puede volverse escamosa. Si la reacción es grave, puede que se pierdan áreas de la piel, el color de esta puede oscurecerse, y la textura se torna muy dura. La piel puede curarse al cicatrizar, y el movimiento de las articulaciones cercanas, tales como los dedos, puede quedar restringido. Las lesiones de la piel pueden ir acompañadas de caída del cabello.
- La parte interior de la boca y el esófago (un tubo que se extiende desde la boca hasta el estómago) pueden resecaarse en exceso y lastimarse. Pueden aparecer úlceras. La tendencia a la sequedad puede conducir al cese de formación de lágrimas y producir sequedad vaginal y de otras superficies.
- Los pulmones también pueden sufrir los efectos de la sequedad y la cicatrización por el ataque de las células inmunitarias del donante.
- Las lesiones hepáticas pueden resultar en una insuficiencia de la función hepática y del flujo de bilis, que puede no ser manifiesta pero puede detectarse mediante mediciones de química sanguínea. En casos graves, la bilis puede volcarse en la sangre y provocar ictericia.

La EICH crónica puede ser leve con mejoras posteriores, o más grave, persistente e incapacitante.

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DE LA EICH

Los adelantos en las técnicas de trasplante, tales como la verificación más exacta de la compatibilidad de HLA, el tratamiento de pacientes con fármacos inmunodepresores y esteroides (metilprednisona o prednisona o micofenolato mofetil), la reducción de linfocitos T del injerto del donante y, cuando es posible, el uso de sangre del cordón umbilical como fuente de células donantes, todos han ayudado a reducir el riesgo que el paciente tiene de padecer EICH.¹⁷

3. FASE TARDÍA

Es la que va desde los 3 meses postrasplante hasta el año, que es cuando se reconstituye el sistema inmunitario del paciente.³⁶ Las infecciones son la complicación más frecuente y se da en los pacientes con trasplante alogénico que sufren de EICH. En estos casos se mantienen los defectos de inmunidad humoral y celular y daño en la función del sistema reticuloendotelial, y los pacientes tienen riesgo de sufrir infecciones por CMV, virus varicela-zóster, virus Epstein-Barr, virus respiratorios y por bacterias encapsuladas como el *H. influenzae* y el *S. pneumoniae*.

IMPLANTE O INJERTO

Tanto las células T como las NK del donante y del receptor, así como las células CD34+ del donante, están involucradas en la toma del injerto, y se necesita una importante inmunosupresión para permitir que esto ocurra.

Las células NK del donante favorecen el injerto a través del reconocimiento y destrucción de los linfocitos y células hematopoyéticas residuales en el receptor.

Es conocido que las células CD34+ influyen en el injerto de diferentes formas. Estas células pueden bloquear la función de las células T del receptor, a través de un efecto de "veto" que lleva a la apoptosis de las células T reactivas del receptor. En los trasplantes depletados de células T, las células CD34+ del donante son la fuente principal de células NK que favorecen el injerto tanto en los trasplantes HLA idénticos como no idénticos, por lo que un alto número de células CD34+ tiene un efecto beneficioso en este proceso.

El uso de altas dosis de inmunosupresores en los trasplantes no mieloablativos con fludarabina y CFM, muestra la importancia del injerto de las células T en el establecimiento de una hematopoyesis duradera. En las primeras semanas después de este tipo de trasplante, el 100 % de las células T son de origen del donante, mientras que la recuperación de la hematopoyesis es predominantemente del receptor.

Semanas o meses más tarde, la hematopoyesis del receptor es sustituida por la del donante, seguido por lo que se considera efecto injerto contra médula del trasplante.

En contraste, los receptores que no logran un injerto temprano de las células T del donante, tienen un alto riesgo de rechazo por las células residuales del receptor.³⁷

FRACASO O FALLO DE INJERTO

Se considera FI cuando las CPH trasplantadas son incapaces de mantener la hematopoyesis en unos niveles adecuados. En el trasplante alogénico no existe consenso en cuanto a los criterios para definir el retraso de implante, tras el trasplante, pero la mayoría de los autores lo consideran cuando existe:

- Incapacidad para alcanzar más de 100 neutrófilos en el día +21 post-trasplante.
- Incapacidad de alcanzar más de 500 neutrófilos en el día +28 post-trasplante.

En general se han descrito dos tipos de FI: El FI primario en el cual no existe evidencia de recuperación hemopoyética tras el proceso y el fallo de implante tardío en el cual se produce inicialmente una recuperación hemopoyética y posteriormente se desarrolla una pancitopenia. Ambos obedecen a mecanismos inmunológicos de defensa del receptor contra el implante.

La frecuencia de esta complicación aumenta cuanto mayor es la disparidad antigénica entre donador y receptor, menor es la intensidad del régimen de acondicionamiento, menor es la cantidad de células infundidas y mayor es la sensibilización previa del receptor por transfusiones.

El tratamiento de un FI es difícil. Si existen datos indicativos de prendimiento puede intentarse un tratamiento con el factor de crecimiento granulo-macrofágico y una segunda infusión de CPH. Si no hay ninguna evidencia de hematopoyesis derivada del donante, esta segunda infusión debe ir precedida por un nuevo régimen de acondicionamiento inmunosupresor.¹⁹

QUIMERISMO

Una importante herramienta clínica en la evaluación de los trasplantes de células hematopoyéticas es el estudio del quimerismo, el cual nos permite conocer si el sistema linfohematopoyético del donante ha sido capaz de implantarse en el organismo del receptor o paciente y si lo ha hecho desplazando al sistema linfohematopoyético del receptor o coexistiendo en equilibrio con este.³⁸ Dependiendo de la intensidad del régimen de acondicionamiento, entre otros factores, y en función de si se consigue o no erradicar de forma completa la hematopoyesis del paciente o receptor podemos hablar de diferentes posibilidades de reconstitución de la hematopoyesis:

- Si la erradicación es total y se implantan las células del donante, hablamos de QC.

- Si la erradicación es parcial y no se destruye completamente la hematopoyesis del paciente, coexisten células del donante y del receptor, hablamos de QM. En este caso las células del receptor pueden ser todas sanas o bien persistir células leucémicas (en neoplasias hematológicas) que pueden provocar la recaída de la enfermedad.
- Si la erradicación es total, pero las células del donante no se implantan (por problemas inmunológicos principalmente), hablamos de FI.
- Si no se consigue erradicar completamente la hematopoyesis del paciente y las células del donante no logran implantarse, la reconstitución hemopoyética se puede producir a expensas de células del propio paciente y hablamos de una RA, si éstas células son leucémicas se produce recidiva de la enfermedad.

TÉCNICAS PARA LA DETECCIÓN DEL QUIMERISMO

La evaluación de la reconstitución hemopoyética son parámetros hematológicos que permiten controlar la evolución clínica del paciente durante los primeros meses del trasplante, pero de los que no se puede obtener información alguna sobre el origen celular del nuevo sistema hemopoyético que se está formando. En las últimas décadas se han desarrollado diferentes metodologías que permiten conocer cualitativamente y cuantitativamente el origen de estas nuevas células hemopoyéticas, a la vez que permiten realizar un seguimiento exhaustivo del injerto en los pacientes trasplantados.

Las técnicas más utilizadas actualmente son:

- El estudio del fenotipo eritrocitario.
- El estudio de los cromosomas sexuales mediante el análisis citogenético, técnicas de hibridación in situ fluorescente (FISH) y PCR.
- El estudio de polimorfismos de DNA mediante RFLP, VNTR, STR.

Todas ellas son capaces de distinguir entre células del receptor y del donante.³⁹

El análisis molecular del quimerismo nos permite conocer el éxito o fracaso del trasplante y la posibilidad de una recaída, incluso antes que aparezcan las evidencias morfológicas.

Es necesario mantener el estudio del quimerismo de manera periódica hasta el año de trasplantado el enfermo. La literatura recomienda que se realice el estudio a los 30, 60, 90, 120 días, 6 y 12 meses.³⁸

RECUPERACION HEMATOLOGICA

Suele iniciarse entre el día +10 a +21, evidenciándose células hematopoyéticas en médula ósea y comenzando el ascenso de las cifras de reticulocitos, leucocitos y plaquetas.

En el momento que se inicia la recuperación hematológica es cuando pueden evidenciarse los primeros signos y síntomas de EICH.³⁴

RECONSTITUCION INMUNE

El trasplante de CPH, experimentan un período prolongado de disfunción inmunológica, que puede persistir por varios meses. Presentan un patrón predecible de deficiencia y recuperación del sistema inmune y existe una afectación de la inmunidad tanto celular como humoral, lo cual hace que estos pacientes tengan un riesgo elevado de infecciones, con alta morbilidad.

La recuperación de la inmunidad celular y humoral después de la exposición a altas dosis de terapia citotóxica, está en dependencia predominantemente de la reconstitución de los elementos linfoides. En el TA., la reconstitución inmunológica es particularmente más demorada debido a la re-educación de las células linfoides del donante en un ambiente extraño en ausencia de timo funcional. La naturaleza de la inmunidad disfuncional surge de las alteraciones cualitativas y cuantitativas de los linfocitos T y B, lo que en ausencia de EICH-C, se resuelve en un período de 6-12 meses. Después del TCPH, el número de linfocitos T y B circulantes, recupera sus valores normales en las primeras 6 semanas, manteniendo un déficit funcional durante el primer año.

Los niveles de inmunoglobulina se mantienen normales o se recuperan a los 6 meses.

Niveles normales de CD3 y CD4 se alcanzan a los 12 meses.³⁷

Los niveles de linfocitos CD8 permanecen bajos y son normales entre los 9 y 12 meses.

La respuesta clonogénica a mitógenos se normaliza entre los 6 y nueve meses.

Las células NK se normalizan hacia los 3 meses.⁴⁰

Los neutrófilos se recuperan en 2 ó 3 semanas, pero se mantiene una disminución de la quimiotaxis por un período de hasta 4 meses.

El número de monocitos en la SP regresa a los valores normales en los primeros 40 días y su función es generalmente normal.

Los macrófagos aparecen en el hígado y en los pulmones cerca del día 80 y se ha demostrado que son del donante.³⁷

CAPITULO II

HISTORIA DEL TRASPLANTE CON CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS

MÉDULA ÓSEA

Los experimentos en los que se basó el TMO humano se efectuaron en ratones hace más de 40 años, aunque se plantea que los inicios de este proceder comenzaron en el siglo pasado en 1891, cuando Brown le administraba a sus pacientes MO por vía oral, como tratamiento para trastornos hematológicos.

En 1939, Rasjek y Osgood administraron a sus pacientes MO intramedular y endovenosa para el tratamiento de leucemias y aplasia medular. También en este año se realizó el primer intento de recuperar la hematopoyesis mediante la administración de transfusiones en un paciente con anemia aplásica, así como una pequeña cantidad de MO de su hermano, sin mediar ningún tratamiento condicionante previo.¹⁸

La historia del TMO inicia con el concepto propuesto por Artur Pappenheim, en el siglo XIX, de la existencia de una célula precursora de la que se originan todas las líneas celulares hematopoyéticas.⁴¹

En 1949, con los estudios de Jacobson y otros, se demostró que los ratones irradiados letalmente, podían recuperar su hematopoyesis normal si se protegía el bazo de las radiaciones, lo que demostraba el papel de este órgano como parte del sistema hematopoyético.¹⁸

Los trabajos de Lorenz, en 1951, mostraron que la muerte de ratones sometidos a dosis letales de radiación se evitaba con la administración de células de médula ósea de un ratón de la misma cepa, lo que en 1956 se demostró era debido a la colonización de la MO del receptor por las CPH del donador.

Los primeros TMO en humanos fueron realizados por E. Donnall Thomas, en 1957, quien trasplantó a seis pacientes con diversas patologías, obteniendo las CPH de costillas de

cadáveres, de costillas de pacientes resecaadas durante cirugía y mediante la aspiración de crestas iliacas de pacientes y de donadores sanos, con pobres resultados, ya que sólo se logró un injerto transitorio en dos casos. Esta primera experiencia demostró que cantidades relativamente grandes de MO podían ser administradas por vía intravenosa sin toxicidad.

Mathé, en 1959, logró llevar a cabo el primer trasplante alogénico duradero; el paciente falleció por múltiples complicaciones de lo que ahora conocemos como EICH-C.

En la década de los 60's, Mathé y Thomas intentaron infructuosamente realizar trasplantes alogénicos en pacientes con leucemia aguda, usando RCT, presumiblemente letal, con dosis de 400-600 Gy. Posteriormente estudios en perros mostraron que se requerían dosis > 800 Gy para lograr una inmunosupresión suficiente que permitiera que la MO alogénica se injertara.

Un descubrimiento crítico en el desarrollo del TACPH fue el reconocimiento del MHC en humanos (HLA) descrito por Dausset y Payne. Gracias a ello, fue posible seleccionar donadores compatibles que permitieran un injerto duradero sin el riesgo de EICH letal. Esto permitió que, en 1968, el grupo de Minneapolis y el grupo de Milwaukee, en forma simultánea, llevaran a cabo, con éxito, los primeros TMOA de un donador HLA compatible, en niños con inmunodeficiencia grave. En marzo de 1969, el grupo de Seattle llevó a cabo, con éxito, el primer trasplante HLA compatible en un paciente leucémico, con un esquema de acondicionamiento a base de RCT y CFM. También el grupo de Seattle, en 1972, publicó los primeros cuatro casos con anemia aplásica grave tratados con trasplante de MO de donadores HLA idénticos, utilizando únicamente CFM como acondicionamiento, lográndose que dos de ellos fueran supervivientes a largo plazo. Estos estudios demostraron que pacientes con AAG podían ser trasplantados exitosamente y que pacientes con leucemia aguda en fases avanzadas podían ser curados con TMOA utilizando RCT y CFM.⁴¹

SANGRE PERIFÉRICA

Los inicios del trasplante de CPHs obtenidas de SP fueron en 1962, cuando Goldman y Hudson demostraron la existencia de CPH en la sangre de los ratones, las que podían recolectarse de forma exitosa, cuando comenzó a desarrollarse la tecnología de la citocentrifugación.

Esta fuente de CPH se comenzó a utilizar en pacientes en los que no se podían obtener

células progenitoras medulares, debido a su enfermedad de base o a irradiación previa, y su uso se amplió después de descubrir que los factores de crecimiento hematopoyéticos causaban una liberación transitoria de CPH en la SP.¹⁸ De esta forma, en 1981 se introdujo la SP como fuente de CPH⁴² y así en 1987 se llevó a cabo el primer autotrasplante con CPH de sangre periférica y posteriormente también trasplantes alogénicos.

A partir de la década de los 90's ha sido posible también obtener las CPHs llevándolas desde la cavidad de los huesos hacia la sangre de las venas y arterias (donde la mayoría de las células sanguíneas son maduras), mediante la aplicación de un medicamento llamado "factor recombinante humano estimulador de colonias de macrófagos/granulocitos". De esta forma, se pueden extraer las CPHs que se han transportado a la sangre venosa, mediante un proceso similar al de la donación de plaquetas ("aféresis").⁴³

CORDÓN UMBILICAL

La primera observación de la presencia de células madre en la sangre del cordón umbilical se debe a Knudtz y cols, quienes en 1974 publicaron la detección de unidades formadoras de colonias circulantes en muestras de cordón humano.⁴⁴ En la discusión de su artículo, los autores sugirieron la posibilidad de que esas "células madre hematopoyéticas" pudieran ser de utilidad en la regeneración de la médula ósea. Este hallazgo motivó que otros grupos comenzaran a investigar el potencial de la SCU como fuente de células madre. Así, en 1982 Nakahata y Ogawa demostraron la presencia, no sólo de progenitores comprometidos, sino de células multipotentes con capacidad de auto renovación. Posteriormente Koipe y colaboradores demostraron que la SCU podía someterse a criopreservación, manteniendo su viabilidad y su funcionalidad hematopoyética. Estos autores sugirieron, ya en 1983, que podría ser de utilidad establecer bancos de unidades congeladas de SCU. Sin embargo no fue hasta 1989 en que Broxmeyer y cols plantearon la posibilidad de emplear la SCU como fuente de células madre trasplantables.⁴⁵ Finalmente fué en octubre de 1988 cuando se realizó el primer trasplante utilizando CPH de sangre de cordón umbilical, realizado en Francia por la Dra. Elaine Gluckman, quién descubrió que en la sangre de la placenta y del cordón umbilical también existen CPHs con capacidad de repoblar la médula ósea de un paciente.⁴³ El receptor, un niño de 6 años con anemia de Fanconi, recibió la sangre de cordón umbilical de su hermana. A más de 20 años de ese trasplante el joven se encuentra

totalmente recuperado. Desde entonces hasta la actualidad, se han llevado a cabo mas de 9000 trasplantes con SCU en todo el mundo, la mayoría de ellos en niños. Esto es debido a que se requiere un número mínimo de células para garantizar el prendimiento del injerto, que se ha fijado en 1×10^5 células por kilogramo de peso del receptor. Considerando la cantidad de células presentes en la SCU, los pacientes adultos con un peso superior a 60 kg, tiene dificultades para encontrar una unidad que les garantice el implante. Recientemente Brunstein y Wagner, en una revisión de la situación actual del trasplante de sangre del cordón umbilical en pacientes adultos, apuntan las distintas estrategias aplicables, tales como la expansión células in vitro, el empleo simultáneo de dos unidades, la inyección intramedular, y la co-infusión de linfocitos T reguladores o células mesenquimiales. Los resultados clínicos son alentadores y ya no existen dudas acerca de la capacidad de las células presentes en la sangre del cordón para regenerar a largo plazo la MO, la cual puede ser utilizada para tratar numerosos desórdenes malignos y no malignos.⁴⁶

CAPITULO III

SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL COMO FUENTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS PARA TRASPLANTE

Cuando se analizó la sangre de cordón umbilical se encontró una cantidad similar o mayor de progenitores hematopoyéticos que en la medula ósea del adulto, que son inmaduros y comprometidos y que son capaces de producir el implante en niños y adultos.

La mayoría de los linfocitos de la sangre de cordón son inmaduros y condicionan menor riesgo de EICH permitiendo realizar un trasplante con 1-2 antígenos HLA incompatibles. Su disponibilidad es abundante permitiendo crear bancos de CPH-CU con un balance étnico pudiéndose criopreservar de acuerdo a las demandas, además de que su colección es fácil y segura.

La dosis recomendada de células nucleadas por Kg de peso del receptor es de 3.7×10^7 como dosis óptima y de 2×10^7 como dosis mínima.⁴⁷

En la actualidad, es la tercera fuente de células progenitoras hematopoyéticas para trasplante en adultos y la segunda en niños.¹⁸ Se ha empleado en enfermedades genéticas y malignas y se ha utilizado en pacientes con compatibilidad total o parcial, familiares y no familiares.

CARACTERÍSTICAS DE LA SCU QUE LA CONVIERTEN EN UNA POTENCIAL FUENTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS

NÚMERO DE CPH

La experiencia clínica ha demostrado que la SCU contiene suficientes células progenitoras hematopoyéticas como para reconstituir la hematopoyesis en pacientes, de hasta 40 kilos de peso. En pacientes con mayor peso, se han realizado ya con éxito, los primeros trasplantes de SCU utilizando dos unidades procedentes de dos donadores diferentes.

CAPACIDAD PROLIFERATIVA DE CPH

Se ha demostrado que las características de las células progenitoras de SCU difieren de las de MO.

Las CPH de la SCU contienen una mayor proporción de células CD34+ primitivas con mayor capacidad clonogénica en presencia de factores de crecimiento añadidos y con capacidad mucho mayor de generar colonias secundarias. Existen así mismo diferencias en las características fenotípicas entre las células progenitoras primitivas de la SCU y de la médula ósea.

ALOREACTIVIDAD DISMINUIDA

Si bien la capacidad de proliferar de los linfocitos T de la SCU frente a estímulos alogénicos primarios es similar al de la sangre o la médula ósea del adulto, su actividad citotóxica basal es menor por lo que se comportan como linfocitos inmaduros. También se han observado niveles inferiores en varias citocinas proinflamatorias, inmadurez funcional de las células dendríticas y menor actividad celular NK.

Estos hallazgos, podrían explicar, al menos en parte, la menor intensidad de la enfermedad injerto contra huésped observadas en los trasplantes de SCU y que permiten emplear unidades con diferencias en el complejo mayor de histocompatibilidad en 1 y hasta 2 antígenos.

EXPANSIÓN “EX VIVO” DE LAS CPH

La capacidad de expansión de las CPH de la SCU es superior a la de la médula ósea o de la SP después de la movilización. Si bien los resultados más espectaculares se han obtenido con CPH comprometidas, estudios recientes parecen demostrar que también las células progenitoras más primitivas como las CD34+ CD38- pueden ser expandidas. Esto implica una gran repercusión en la aplicación de la SCU tanto en terreno de los trasplantes como en el de la terapia génica.⁴⁸

VENTAJAS DE ESTA FUENTE DE CPH

- ✓ Disponibilidad inmediata debido a que las unidades se encuentran almacenadas en bancos de cordón y con tipificación HLA.
- ✓ Ausencia de riesgo para la madre y el niño.

- ✓ Enfermedad del injerto en contra del hospedero con un riesgo reducido potencial.
- ✓ Menor exigencia de una compatibilidad HLA perfecta, lo que aumenta el potencial de encontrar donadores para poblaciones minoritarias.
- ✓ No hay dolor o morbilidad para el donante.
- ✓ Menor posibilidad de transmisión de infecciones.
- ✓ Mayor posibilidad de crear un banco de células.
- ✓ Posibilidad de combinar varios donantes.
- ✓ Menor tiempo de búsqueda de donante.

DESVENTAJAS DE ESTA FUENTE DE CPH

- ✓ No poder tener una donación subsecuente, es decir, se tiene una dosis fija de progenitores hematopoyéticos y no permite una infusión de linfocitos subsecuente.
- ✓ Escasa dosis celular en las bolsas que impide en muchos casos realizar trasplantes en adultos o pacientes de gran peso.
- ✓ Tiempos de injerto prolongados en todos los linajes celulares, lo que implica un soporte de transfusiones enérgico mientras se logra el injerto y posiblemente una estancia prolongada en el hospital o una erogación importante de recursos.
- ✓ Los pacientes incluidos generalmente en este tipo de trasplante son de alto riesgo con enfermedad avanzada.
- ✓ Se desconoce si tiene un efecto injerto contra leucemia efectivo.
- ✓ Posibilidad de transmisión de enfermedades genéticas no reconocibles en el momento del nacimiento.^{49,18}

LA ELECCIÓN DE LA MEJOR UNIDAD DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Dada la menor alo-reactividad de los progenitores de SCU es posible aceptar unidades con cierto grado de incompatibilidad.

A pesar de los avances logrados en la tipificación HLA, el grado de identidad unidad-receptor se sigue valorando tan sólo con los loci A y B por mediana resolución y el locus DRB1 por alta. Ello es así porque hay estudios que han analizado si una tipificación más precisa de las unidades (A, B, DRB1, DQB1 por alta resolución) mejoraría los resultados, no han podido demostrar ningún beneficio. Todas estas características de la SCU hacen

que sea posible encontrar una unidad con un grado de compatibilidad aceptable (6/6, 5/6, ó 4/6) para la mayoría de los pacientes. Sin embargo, el reducido volumen de las unidades de SCU hace que, a pesar de su elevada concentración en progenitores hematopoyéticos, su cantidad total sea insuficiente para receptores con un elevado volumen corporal. Para ello, la localización de unidades validadas es relativamente simple en los niños y adolescentes de bajo peso y más difícil en adultos. Los resultados son claramente mejores cuando se trata de pacientes jóvenes (menores de 40 años), que llegan al TPH con la enfermedad de base en remisión, y reciben unidades con mayor ó igual 4/6 identidades y mayor de 2×10^8 CNT/kg.

La mejor correlación entre celularidad CD34+ y resultados del TSCU y la progresiva homogenización y estandarización de la cuantificación de dichos progenitores, ha hecho que cada vez sean más los centros de trasplante que exigen la cuantificación de CD34+/kg. El impacto de la celularidad en el TSCU es tal que los resultados mejoran notablemente si el grado de incompatibilidad de HLA se compensa con una mayor celularidad infundida. Así, mientras que valores de 2×10^8 CNT/kg ó 1×10^5 CD34+ /kg podrían ser suficientes para una unidad con 6/6 ó 5/6 identidades, sería recomendable alcanzar los 4×10^8 CNT/kg ó 2×10^5 CD34+/kg para las unidades con 4/6 identidades.⁴⁷

CAPITULO IV

TRASPLANTE DE SCU EN NIÑOS

El trasplante de sangre de cordón umbilical constituye una alternativa al trasplante de progenitores hematopoyéticos de médula ósea o de sangre periférica, dado su elevado potencial hematopoyético, obteniéndose resultados clínicos similares a los alcanzados con las otras fuentes de progenitores hematopoyéticos, en las mismas situaciones clínicas. Otras ventajas de éste son la facilidad de obtención y su alorreactividad reducida que la hace especialmente atractiva para realizar trasplantes con menor grado de compatibilidad en el sistema HLA.

Es evidente que el trasplante de sangre de cordón umbilical constituye una alternativa terapéutica eficaz en el paciente pediátrico de menos de 50 kg para el tratamiento de diversas enfermedades hematológicas y genéticas: leucemias linfoides y mieloides (agudas y crónicas), anemia de Fanconi (anemia hereditaria), anemia aplásica (la anemia adquirida) y síndromes talasémicos.

El primer trasplante de sangre de cordón umbilical se realizó en el año 1988 en un niño afectado de aplasia de Fanconi.⁵⁰ Se han realizado desde entonces más de 9000 trasplantes con esta fuente de progenitores, en su mayoría a partir de donante no emparentado y la mayoría de ellos en niños. Esto es debido a que se requiere un número mínimo de células para garantizar el prendimiento del injerto, que se ha fijado en 2×10^7 CNT por kilogramo de peso del receptor.

Se ha demostrado que el trasplante de SCU alogénico en niños es capaz de reconstituir la hematopoyesis y de alcanzar un injerto sostenido en la mayoría de los casos, esto asociado a una baja incidencia de EICH así como un bajo riesgo de recaída.

En estos trasplantes se ha demostrado el impacto que tiene la dosis de CNT, UFC, dosis de CD34+ sobre el injerto.⁴⁷

CAPITULO V

TRASPLANTE DE SCU EN ADULTOS

El trasplante alogénico de células de cordón umbilical es una opción terapéutica en pacientes pediátricos con trastornos hematológicos, pero también se ha usado para pacientes adultos.

Un tercio de los trasplantes de SCU que son realizados son para adultos; sin embargo, en adultos el éxito del injerto, la recuperación hematopoyética y la supervivencia después del trasplante está condicionado a la dosis celular de CD34+ y a la dosis de células nucleadas totales, por lo que la escasa dosis de células en una sola unidad de SCU ha mostrado ser la barrera más importante del empleo en trasplantes para pacientes pediátricos de mayor peso ó adultos, lo cual se ve reflejado en el fracaso del injerto y la mortalidad.

Sólo un escaso número de pacientes encuentran la dosis de células requerida en una sola unidad de SCU para lograr el éxito del injerto que por lo menos debe de ser de $2.0 \times 10^7/\text{kg}$ de CNT y $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ de CD34+, y debido a que la mayoría de las unidades de SCU no cumplen con esta celularidad, el resto de los pacientes adultos con un peso superior a 50 kg resultan ser inelegibles para el TSCU; es por esto que se han desarrollado diferentes técnicas para vencer la dosis baja de células de una sola unidad.

Entre las diversas técnicas que se están empleando para vencer la dosis celular tenemos las siguientes:

- Cultivo in vitro para aumentar el número de CPHs.
- Empleo de inyección intramedular de SCU.
- La co-infusión de linfocitos T reguladores o células mesenquimales.
- Infusión de múltiples unidades de SCU.⁵¹

En la técnica de doble trasplante de unidades se utilizan las unidades más compatibles y que tengan igual o mayor de 1.0×10^5 CD34+ /kg de peso del receptor, con un HLA igual o mayor de 4/6 con el paciente y mayor o igual HLA 4/6 entre unidades.⁴⁷

CAPITULO VI

PROCESO DE BSCU

Un BSCU es un centro dedicado a la recolección, procesamiento, estudio y criopreservación de CPH procedentes de SCU, que tienen como finalidad, la aplicación clínica en trasplantes para regenerar la médula ósea. Bajo este propósito, el CNTS implementó un BSCU basado en los estándares internacionales de NETCORD-FACT, con tecnología totalmente automatizada, lo que permite desarrollar controles que verifiquen la calidad funcional del producto (calidad hematopoyética), la seguridad del receptor (calidad transfusional) y garantizar el proceso de manufactura, es decir, que no transmita enfermedades, que no este contaminado el producto y que preserve su integridad y función.

El Objetivo del Banco es producir unidades de CPH de cordón umbilical, bajo un proceso de manufactura semejante al de un medicamento, basado en las GMP, GLP, GTP, garantizando la calidad hematopoyética y transfusional, para su uso en trasplante para regenerar médula ósea de acuerdo a estándares internacionales (Netcord y JACIE) así como servir a los centros de trasplante, seleccionando la mejor unidad disponible de CPH a través de su propio inventario.

Un BSCU está conformado por la unidad materna, la unidad de procesamiento y criopreservación, la unidad de búsqueda y gestión de datos.

La unidad materna es la única área que se encuentra fuera de las instalaciones de un BSCU, su función es recolectar la SCU, siguiendo las pautas establecidas por el banco de cordón.

La unidad de procesamiento y criopreservación se encarga de recibir las muestras, procesarlas y criopreservarlas bajo estrictos controles de calidad tanto hematopoyéticos como de seguridad transfusional.

La unidad de búsqueda y gestión tiene como función gestionar las peticiones de unidades para ser trasplantadas y coordinar la comunicación administrativa entre el BCU y los centros de trasplante.

LOS PROCESOS EN EL BSCU

Para la utilización terapéutica de la sangre de cordón es necesario definir y controlar el proceso, que lleve el producto controlado desde el territorio vascular placentario hasta el sistema circulatorio del receptor. El proceso consiste en tres fases:

- Una donación del producto.
- Una segunda de manipulación que lleva el producto desde el BSCU hasta el centro del trasplante.
- Una tercera de trasplante y seguimiento clínico.

Durante estos procesos se deben realizar actuaciones que mantengan las propiedades funcionales del producto (calidad hematopoyética), y la seguridad del receptor (calidad transfusional).

PROCESO DE DONACIÓN

La donación de SCU deberá siempre reunir y garantizar los siguientes aspectos:

- La confidencialidad. Se debe garantizar que toda la información relativa a los donadores y receptores será obtenida, tratada y custodiada en la más estricta confidencialidad.
- La promoción y publicidad de la donación de SCU se realizará siempre con carácter general y señalando su carácter voluntario, altruista y desinteresado.
- **No** se podrá percibir ninguna compensación económica o de ningún otro tipo por la donación.
- La finalidad será exclusivamente terapéutica, con el propósito de favorecer la salud o las condiciones de vida del receptor.
- La obtención previa de la firma o del consentimiento informado.
- La obtención de los progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón umbilical de forma expresa, libre, consciente y desinteresada.
- **No** podrá obtenerse de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental ó que por cualquier otra causas no puedan otorgar sus consentimiento.

- El consentimiento deberá formalizarse por escrito y ser firmado por el donador y el médico, en presencia de dos testigos.

SELECCIÓN DE DONADORAS Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se utilizarán los partos en que:

- La recolección de la SCU se realizará en mujeres con embarazos a término.
- Tras valoración de la historia obstétrica, en el momento de la llegada de la unidad materna, esta se considere normal y sin antecedentes de riesgo.
- No existan antecedentes médicos maternos o paternos que supongan un riesgo de transmisión de la enfermedad congénita o infecciosa grave de la SCU.
- Desarrollo normal del parto.
- Controles serológicos negativos durante la gestación.
- Se desarrollen en forma compatible con la realización de la recolección.
- Desarrollo y consentimiento informado firmado por la madre.

Se consideran excluidos de la obtención de SCU aquellos partos que:

- La duración de la gestación sea inferior a 34 semanas.
- Exista una ruptura prematura de membranas de 12 o más horas antes del parto.
- Se evidencie fiebre materna superior a 38°C.
- Exista anemia materna severa.
- Se detecte sufrimiento fetal.
- Exista evidencia de enfermedad infecciosa transmisible.
- Inmunización feto-materna

OBTENCIÓN DE SCU

BOLSA DE OBTENCIÓN DE SCU

Se utilizarán bolsas de hemodonación que contengan anticoagulante apropiado (25 ml de CPDA para 150 ml de SCU) y sistema cerrado de recolección para minimizar el riesgo de contaminación bacteriana.

EL EQUIPO DE RECOLECCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE SANGRE DE CORDÓN CONTIENE EN FORMA GENERAL

Bolsa de recolección, tubos de serología materna, tubo para fragmento y documentos.

Los equipos de recolección son proporcionados siempre por el banco de cordón y se conservan almacenados por la unidad materna, en un lugar limpio, preservado de la luz y del calor.

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN

Tras el parto, el cordón umbilical se pinza precozmente a 5 cm del ombligo con dos pinzas y a continuación se corta el vínculo materno-fetal, iniciándose la recolección de la sangre cuando la placenta está aún dentro del útero, previa asepsia del cordón umbilical con yodo. La técnica se lleva a cabo mediante punción de la vena umbilical, con la bolsa de recolección y drenaje por gravedad.

Se debe tener precaución de agitar la bolsa durante los dos o tres minutos que dura la recolección para evitar la formación de coágulos.

ALMACENAMIENTO DE LAS BOLSAS LLENAS

Las bolsas llenas se podrán mantener hasta 24 horas a temperatura ambiente o bien en una hielera a 4°C acondicionada para tal fin, hasta que sean enviados al centro de procesamiento.

La criopreservación deberá realizarse preferentemente antes de las 24 horas desde la recolección, o máximo antes de las 40 horas.

En la experiencia recabada por los BCU se ha observado un aumento de la muerte celular después de las 24 horas de extracción de la sangre, por lo que es más recomendable su procesamiento en las primeras 24 horas.

CONTROLES A REALIZAR EN EL MOMENTO DEL PARTO

Se deben obtener dos muestras de sangre para el control de la serología infecciosa materna : Ags Hb, VHC, VIH-1+2, sífilis y chagas, así como una muestra tisular de cordón umbilical, que se empleará como fuente de ADN para los estudios correspondientes previos al trasplante de la unidad.

PROCESAMIENTO DE LA SCU

Cualquier manipulación aumenta el riesgo de contaminación microbiológica del material de injerto y esto debe de cuidarse mucho ya que el receptor del injerto es un individuo que por necesidad está inmunocomprometido.

El procesamiento se realiza con un equipo automatizado (Sepax, BioSafe) en un sistema cerrado descartable, compuesto por una cámara de centrifugación, una bolsa para el plasma remanente y una bolsa de criopreservación, a la cual se conecta la bolsa original de colecta. Toda manipulación de las unidades se realiza bajo campana de Bioseguridad clase II. Las unidades de sangre de cordón umbilical se reducen a un volumen estándar de 20 ml, utilizando el equipo automatizado que permite la remoción de plasma y glóbulos rojos mediante el agregado de hidroxietil-almidón de alto peso molecular (20% vol/vol) hasta obtener el concentrado de células requerido (buffy coat). Luego de enfriar a 4 °C la unidad procesada se agrega, a la misma temperatura y en permanente agitación, una solución al 50% de dimetil sulfóxido (DMSO) en Dextran 40 para obtener una concentración final del criopreservante del 10%. Las unidades son selladas al vacío en una bolsa protectora y almacenadas en nitrógeno líquido mediante un descenso programado de temperatura realizado en el mismo equipo donde se almacenan (BioArchive, Thermogenesis).

SOLUCIONES PARA CRIOPRESERVACIÓN

Se recomienda utilizar soluciones de criopreservación que permitan alcanzar una concentración final de 10% de DMSO, 1% de dextrán 40 y 0-8% de hidroxietilalmidón y que sean de grado clínico. La adición de de estas soluciones criopreservantes debe efectuarse en un periodo de 15 minutos, y con temperatura controlada entre los 2 y 4 °C.

El DMSO es una sustancia que evita la cristalización del agua a temperaturas de -170 °C.

CRIOPRESERVACIÓN

Las bolsas deben ser etiquetadas con un código de barras propio de congelación, que garantice su trazabilidad. Se recomienda el uso de sistemas de criopreservación que permitan controlar a la velocidad de congelación, el almacenamiento en un mismo tanque y la inmersión total en N₂ líquido. Este tipo de sistemas permiten además conservar las muestras en cuarentena, o cuando se encuentren pendientes de validación, sin poner en riesgo el inventario de las unidades validadas.⁴⁷

CONTROLES QUE SE REALIZAN A LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Cada unidad se encuentra caracterizada por el volumen de la muestra, el número total de células nucleadas iniciales y totales (mediante un contador celular automatizado), determinación del sistema ABO y Rh, determinación de CD45 y progenitores CD34+ mediante citometría de flujo, HLA por biología molecular de mediana y alta resolución (PCR-SSP y PCR-SSOP); así como cultivos clonogénicos de las muestras post-congelación (stem cell technologies); estudios serológicos por ELISA de VIH, VHC, AgsHB, Sífilis y Chagas, estudios de NAT para VIH, VHC, AgsHB; estudios microbiológicos BacAlert de aerobios, anaerobios y hongos.^{52,47}

CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA

CUANTIFICACIÓN CELULAR

La inclusión de una unidad en un BSCU para uso no emparentado deberá contener un mínimo de 9.0×10^8 células nucleadas totales después de retirar todas las necesarias para los controles.

ANÁLISIS DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

Se determinará mediante citometría de flujo (CD34+) y su capacidad clonogénica mediante el test de unidades formadoras de colonias hemáticas (UFC) en metilcelulosa. Esto podrá realizarse de las muestras en fresco o descongeladas.

CONTROL DE ESTERILIDAD

Es indispensable realizar estudios microbiológicos del producto, antes de la congelación para microorganismos aerobios, anaerobios y opcionalmente, hongos.

CRITERIOS DE DESCARTE DE UNIDADES

Recuento de CNT previo procesamiento menor a 8.0×10^8 CNT, recuperación post procesamiento de CNT menor a 60%, resultados repetidamente reactivos para los marcadores de infecciones obligatorios, exclusión materna debido a la presencia de factores de riesgo comportamentales o causas médicas.

CAUSAS DE EXCLUSIÓN DE UNIDADES YA CRIOPRESERVADAS

Se desechará aquellas unidades ya congeladas en que resulte la serología materna y/o del cordón positiva: VIH, VHB, VHC, sífilis, chagas, CMV y también aquellas unidades con microbiología positiva.

DETERMINACIÓN DE ANTÍGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD

Las unidades de SCU deberán ser estudiadas para antígenos HLA A y B por serología o por biología molecular (ADN), así como locus C, DRB1 y DQB1 por métodos moleculares. Se recomienda que el laboratorio que realice los estudios de HLA esté acreditado por la EFI o ASHI.

CRITERIOS DE ELECCIÓN DE UNA UNIDAD DE SCU PARA TRASPLANTE

Durante el proceso de búsqueda de unidad, el donador será elegido por orden decreciente de preferencia 6/6, 5/6 y mínimo 4/6 identidades, si no hay otras variables que aconsejen otro orden de prioridad respecto al HLA; como puede ser el número de células.

El número de células nucleadas totales de la SCU que recomienda Eurocord para una recuperación hematopoyética rápida y mejor supervivencia, es de 3.7×10^7 CNT/kg de peso del receptor (mínimo 2×10^7 CNT/kg peso para óptimos resultados) y el total de células CD34+ de 2×10^5 /kg de peso (mínimo 1.7×10^5 CD34+/kg de peso).

En el caso de haber varias unidades de SCU disponibles, el médico responsable del centro de trasplante, será quien decida cual debe ser elegido en función de la patología de base del paciente, peso, celularidad de la muestra y compatibilidad HLA de acuerdo a los conocimientos médicos y científicos.

SEGUIMIENTO Y CONTROL DE LA MADRE Y EL RECIÉN NACIDO

Es aconsejable, más no imprescindible, la realización de un control postparto de la madre y del niño a los seis meses de nacimiento, por la posibilidad de existencia de enfermedades congénitas o infecciosas que no hubiesen sido detectadas en el momento de la recolección de la SCU.

Esta valoración puede consistir en una valoración general del estado clínico de la madre y del niño y/o en la repetición de la serología materna.

En el caso de disponer de estos datos, deberán ser añadidos al registro de información de la unidad. La no disponibilidad de los mismos no debe ser motivo de exclusión de la unidad del banco.

PROCESO DE ENVÍO, DESCONGELACIÓN Y TRASPLANTE

TRANSPORTE DE LAS UNIDADES DE CORDÓN

El transporte de las unidades de sangre de cordón se realizará desde el Banco de cordón de origen, hasta el centro de trasplante. El envío será realizado empleando los medios de transporte que sean precisos en cada caso.

El transporte se realizará en un sistema con capacidad para mantener las características adecuadas del cordón, recomendándose el uso de tanques para transporte seco de N₂ líquido, que permiten mantener la temperatura de congelación de la unidad por debajo de los -140°C.

PROTOCOLO DE DESCONGELACIÓN

En caso de utilizarse unidades para ser trasplantadas, se procederá a descongelar con un producto de probada eficacia.

La eliminación de el DMSO de las unidades se realiza debido a que se ha observado efectos secundarios después de la infusión del DMSO contenido en las células, especialmente en pacientes menores de 15 kg de peso en quienes la dosis de DMSO es mayor a 1 gr / kg de peso del receptor. Estos efectos adversos incluyen: convulsiones, hipervolemia, falla cardíaca, náusea, vomito, escalofríos, daño renal grave y dolor abdominal. Afortunadamente es posible evitar la toxicidad asociada con la infusión de células madre removiendo el DMSO, especialmente en pacientes pediátricos. Esto se

realiza por medio de un lavado donde se mezcla la unidad descongelada con una solución que contenga 5% de albúmina y dextrán en volúmenes iguales; se centrifuga la mezcla y se remueve el sobrenadante.

TRASPLANTE

La infusión de la unidad depende del centro de trasplante y es responsabilidad del equipo médico que atiende al enfermo receptor. Es fundamental que el banco de cordón se cerciore de que el centro de destino de su unidad, sea un centro autorizado por las autoridades sanitarias del país para la realización de este tipo de procedimiento terapéutico. Además, el banco debe seguir el resultado de la infusión y del trasplante para detectar posibles anomalías:

- Incidencias en la recepción del producto.
- Resultado de la descongelación. (Caracterización celular y viabilidad).

SEGUIMIENTO CLÍNICO

Se debe realizar el seguimiento del prendimiento (pruebas de quimerismo), de la presencia de la EICH, de la supervivencia, así como determinación de EMR.⁴⁷

CAPITULO VII

OBJETIVO

Realizar un seguimiento de los dobles trasplantes alogénicos de células progenitoras hematopoyéticas de cordón umbilical que se han realizado del 16 de Marzo del 2005 hasta el 31 de Diciembre del 2008 con unidades provenientes del banco de sangre de cordón umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea (CNTS). Así como una evaluación de la calidad de las unidades de SCU que se han infundido en los dobles trasplantes y el posible éxito o fracaso de injerto relacionado a la calidad de la unidad.

CAPITULO VIII

MÉTODOS

Desde junio del 2003 CordMX , a través del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea (CNTS) ha recolectado 1864 unidades de sangre de cordón, de éstas 823 han sido criopreservadas y validadas para trasplante y de las cuales hasta ahora se han realizado un total de 117 trasplantes, donde 100 han sido trasplantes con una sola unidad de cordón y 17 han sido trasplantes con dos unidades de cordón, para alcanzar la dosis requerida de células progenitoras hematopoyéticas en adultos y/ ó en pacientes con masa corporal alta.

La recolección de sangre de cordón umbilical se realizó en 12 unidades maternas de la Secretaría de Salud, y de las cuales actualmente se encuentran 5 en funcionamiento y mediante un programa de donación en población abierta.

La SCU es obtenida en un sistema cerrado inmediatamente después del nacimiento del neonato con placenta in útero, en donantes con embarazo a término que cumplen con los siguientes criterios de aceptación:

- * Tengan al menos 34 semanas de gestación.
- No sean portadoras de VIH, Hepatitis B y C, sífilis, o alguna otra enfermedad transmisible vía sanguínea.
- No sean portadoras de enfermedades hereditarias.
- No se hayan realizado tatuajes o percings en el último año.
- No hayan recibido transfusiones de sangre en el último año.
- No presenten preclampsia o hipertensión.
- No tengan diabetes.
- No haya tenido amenaza de aborto.
- No haya utilizado hormonas para embarazarse.
- Que no utilice ó haya utilizado medicamentos durante el embarazo.
- Que no use drogas o realice prácticas de alto riesgo.
- Que no presenten anemias severas durante el embarazo (menos de 10 g/dl de hemoglobina).

Para el procesamiento se utiliza un sistema de separación y concentración celular automatizado (SEPAX Biosafe), un proceso de mezclado en frío controlado para la adición de criopreservante DMSO (COOLMIX Biosafe); la criopreservación se lleva a cabo con un proceso de congelación controlada de manera automatizada el cual baja la temperatura 1°C/min hasta llegar a -50°C y su almacenamiento final en nitrógeno líquido a -196°C (Bioarchive System TG3626); el conteo y viabilidad celular es realizado por citometría de flujo (FACS Calibur BD) en el que se utiliza anti CD 45+ como marcador de leucocitos y anti CD34+ como marcador de CPH y se determina la viabilidad celular por 7-AAD. Las unidades de CPH listas para la criopreservación contienen 10% de DMSO, 1% de dextrán 40 y 0.8% de Hesperan. Los criterios de validación realizados incluyen: Cuenta de células nucleadas iniciales y finales, determinación de CD34+, CD45+ y viabilidad celular, estudios serológicos (VIH, Ags. HB VHC, sífilis, chagas, citomegalovirus y toxoplasma), microbiológicos (aerobios, anaerobios y hongos), tipificación del sistema ABO/Rh y HLA (A, B, DR, DQ) con mediana resolución al inicio y alta resolución DR en el control de calidad pre trasplante así como cultivos clonogénicos del descongelado. Las unidades para trasplante se descongelan a 37°C en el centro de trasplante y se elimina el DMSO en pacientes con un peso menor de 10 kg con el lavado automatizado SEPAX-Biosafe, con una solución de rehomacrodex-albúmina.

El prendimiento del injerto se realizó mediante pruebas de quimerismo (DNA).

Las unidades de SCU para realizar el doble trasplante fueron obtenidas del Banco de Sangre de Cordón Umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea y del Banco de Cordón de Barcelona España.

PACIENTES

Se realizó el seguimiento en 17 pacientes trasplantados con 2 unidades de SCU, de los cuales 5 son menores de edad, con sobrepeso y una mediana de edad de 14 años (rango 12 a 15 años) y una mediana de peso de 58 Kg (rango 40 a 65 Kg), un menor de 6 años con peso normal de 21 Kg y 11 adultos con una mediana de edad de 33 años (rango 16 a 71 años) y una mediana de peso de 73 Kg (rango 56 a 90 Kg).

De los 17 pacientes incluidos en este estudio 16 presentaban enfermedades oncohematológicas y 1 no oncohematológica.

El 52.94% de los pacientes recibió un régimen de acondicionamiento mieloablativo y el 47.06% recibió el régimen no mieloablativo.

14 de estos pacientes se sometieron a un doble trasplante alogénico de CPH de cordón umbilical con la infusión continua de las dos unidades.

En este estudio se incluyeron tres pacientes con características especiales en el trasplante:

- En el primer paciente se realizó una primera infusión de una sola unidad de SCU, y al mes se realizó la segunda infusión de otra unidad debido a que la primera unidad infundida presentó falla de injerto primario.
- En el segundo paciente la infusión de las 2 unidades de SCU se realizó continuamente y por una pérdida del injerto debido a la administración errónea de ciclofosfamida, se realizó una siguiente infusión con una sola unidad 2 meses después del primer trasplante.
- En el tercer paciente se realizó la infusión de las 2 unidades de SCU continuamente pero debido a una falla de injerto tardío se le realizó 2 meses después una infusión de una unidad de SCU intrahueso.

MATERIAL BIOLÓGICO

El material biológico utilizado en este estudio incluye 35 unidades de SCU provenientes del Banco de Sangre de Cordón Umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea (CNTS) y una unidad proveniente del Banco de Cordón de Barcelona España, cumpliendo con los requisitos de NETCORD para trasplante teniendo como valores finales:

Promedios de las 2 unidades sumadas de SCU utilizadas en doble trasplante:

	PROMEDIO DE LA Σ DE LAS 2 UNIDADES	RANGO
CNT x10⁸	19.9	12.4 - 32.3
CD34+ x10⁶/21ml	8.78	5.3 - 15.8
E-Clone %	40.87	9.2 - 100
UFC x10⁶	1.41	0.333 - 3.6

Promedio de todas las unidades individuales de SCU utilizadas en doble trasplante:

	PROMEDIO DE CADA UNIDAD INDIVIDUAL	RANGO
CNT x10⁸	10.04	5.05 - 24.53
CD34+ x10⁶/21ml	4.36	2.28 - 10.5
E-Clone %	21.6	0 - 100
UFC x10⁶	0.719	0.03 - 1.6

La compatibilidad total de HLA entre las unidades utilizadas para doble trasplante y el receptor fue de:

HLA	UNIDADES DE SCU
6 ' 6	12.13%
5 ' 6	33.33%
4 ' 6	54.54%

CAPITULO IX

RESULTADOS

Trasplantes dobles realizados con unidades de Sangre de Cordón Umbilical provenientes de CordMx.

Desde el 16 de Marzo del 2005 hasta el 31 de Diciembre del 2008 se han realizado 117 trasplantes de SCU con unidades provenientes del Banco de Cordón Umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, de los cuales 97 trasplantes se han realizado con una sola unidad de SCU y 17 con dos unidades de SCU (Fig. 1).

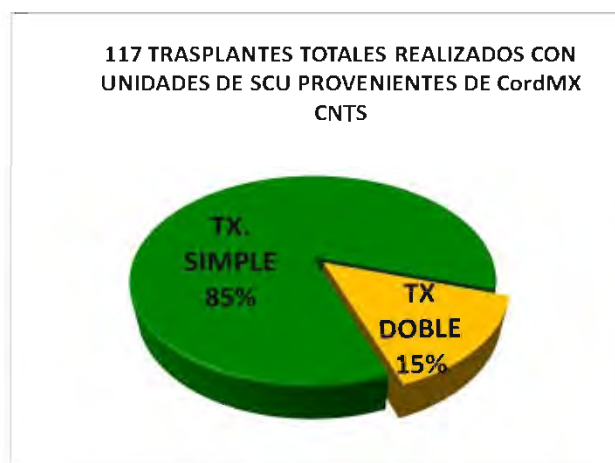


Fig.1 117 Trasplantes totales realizados con unidades de Sangre de Cordón umbilical (SCU) provenientes de CordMx.

Calidad hematopoyética de las unidades de SCU usadas en doble trasplante.

En las siguientes tablas (Tabla 1 y 2) se observan los datos de los promedios y rangos de CNTX10⁸, CD34+/21ml pre congelación, E-Clone% y UFCX10⁶ de las Unidades totales de SCU provenientes de CordMX CNTS utilizadas en los dobles trasplantes, así como los promedios y los rangos de las todas las unidades usadas en doble trasplante con injerto y sin injerto.

		PROMEDIO DE TODAS LAS UNIDADES	PROMEDIO DE UNIDADES USADAS EN TX. CON INJERO	PROMEDIO DE UNIDADES USADAS EN TX. SIN INJERTO
SUMA DE LAS DOS UNIDADES	CNT x10 ⁸	19.9 (12.4-32.3)	20.8 (12.4-32.3)	17.9 (14.2-19.6)
	CD34+ x10 ⁶ /21ml	8.78 (5.3-15.8)	8.97 (5.4-15.8)	8.44 (5.3-12.65)
	E-Clone %	40.87 (9.2-129.7)	43.62 (15.7-100)	36.73 (10.3-56.2)
	UFC x10 ⁶	1.41 (0.333-3.6)	1.41 (0.49-3.6)	1.41 (0.42-2.206)

Tabla 1. Para la suma de las dos unidades de SCU. (TX. Trasplante).

		PROMEDIO DE TODAS LAS UNIDADES	PROMEDIO DE UNIDADES USADAS EN TX. CON INJERO	PROMEDIO DE UNIDADES USADAS EN TX. SIN INJERTO
UNIDADES SOLAS	CNT x10 ⁸	10.04 (5.05- 24.53)	10.58 (5.05- 24.53)	8.975 (5.98-11.44)
	CD34+ x10 ⁶ /21ml	4.36 (2.28-10.25)	4.43 (2.28-10.5)	4.22 (2.37-10.25)
	E-Clone %	21.6 (0-100)	21.46 (0-100)	20.03 (0.4 -34.7)
	UFC x10 ⁶	0.719 (0.03-1.6)	0.704 (0.03 -1.6)	0.772 (0.015-1.6)

Tabla 2. Para cada una de las unidades de SCU. (TX. Trasplante).

En la (Fig. 2) se observan los valores promedio de CNTX10⁸, CD34+/21ml, E-Clone% y UFCX10⁶ que demuestran la potencia hemopoyética de las unidades de SCU provenientes de CordMX CNTS utilizadas en doble trasplante tanto para las unidades solas utilizadas en el trasplante así como la suma de las dos unidades para trasplante.

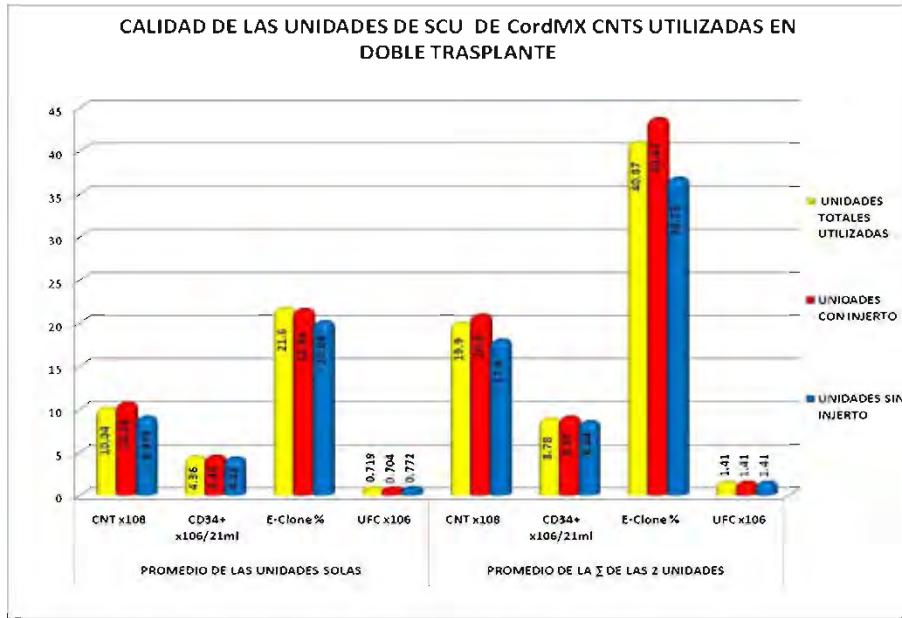


Figura 2. Calidad de las unidades de SCU de CordMX CNTS utilizadas en doble trasplante.

HLA de las unidades usadas en Doble Trasplante de Sangre de Cordón Umbilical (DTSCU) provenientes de CordMx.

En la tabla siguiente (Tab.3) (Fig.3) observamos el porcentaje de histocompatibilidad entre el receptor y todas las unidades de SCU usadas en doble trasplante, también podemos observar el porcentaje de histocompatibilidad usado en DTSCU en receptores que presentaron injerto y de los que no.

% de HLA DE LAS UNIDADES DE SCU DE CordMX USADAS EN DOBLE TX.			
HLA	% DE HLA DE UNIDADES TOTALES	% HLA DE UNIDADES CON INJERTO	% HLA DE UNIDADES SIN INJERTO
6 ' 6	12.13%	9.53%	16.67%
5 '6	33.33%	33.33%	33.33%
4 ' 6	54.54%	57.14%	50%

Tab. 3 % de HLA en unidades de SCU de CordMX usadas en doble trasplante

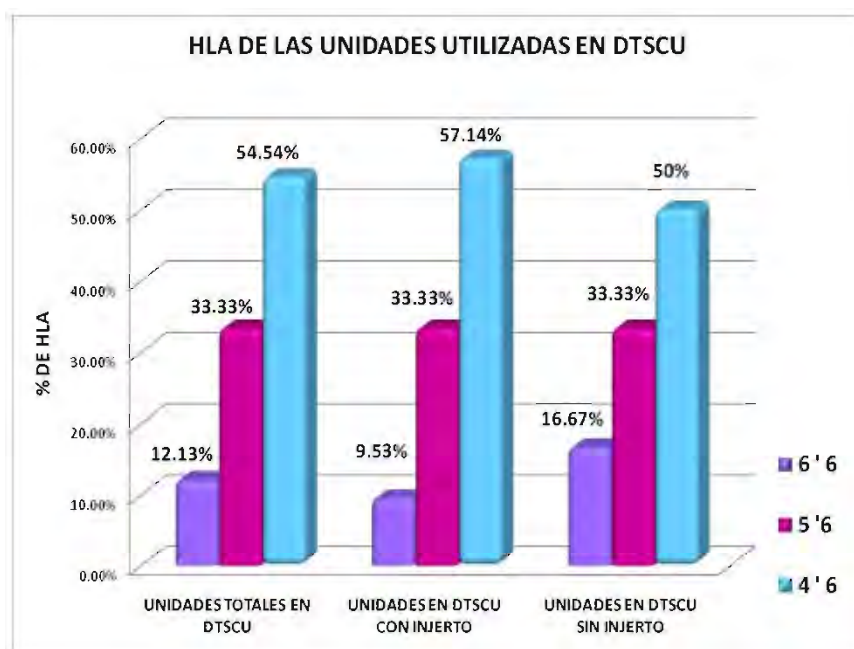


Fig. 3 HLA de las unidades utilizadas en DTSCU.

Seguimiento de los dobles trasplantes con unidades de SCU provenientes de CordMx.

Se realizó el seguimiento de los 17 dobles trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas de SCU con 34 unidades provenientes del Banco de Sangre de Cordón Umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea y una unidad proveniente del Banco de Cordón de Barcelona España.

De los 17 dobles trasplantes alogénicos de SCU provenientes de CordMX, 14 receptores recibieron la infusión continua de ambas unidades y se incluyeron 3 receptores con características especiales.

Receptores con características especiales:

- Al primero de estos tres receptores se le realizó un trasplante simple con una sola unidad de SCU, y debido a una falla de injerto primario, fue necesaria la infusión de otra unidad de SCU dos meses después del primer trasplante, presentando injerto la segunda unidad infundida en el día +6 y presentando el receptor 184 días de sobrevida. Este trasplante por considerarse doble sí fue incluido en los promedios de la suma de las dos unidades de SCU y en los promedios de las unidades solas.
- Al segundo de estos receptores se le realizó un doble trasplante con la infusión continua de ambas unidades, presentándose el injerto de una de las dos unidades el día +21 pero debido a un error humano por la administración de ciclofosfamida en lugar de ciclosporina, el injerto se perdió por lo que se le realizó un segundo trasplante con una sola unidad de SCU dos meses después del primer trasplante, presentándose el injerto de la nueva unidad infundida el día +12. El receptor presentó una infección por *Mucor* y murió a los +25 días después del segundo trasplante. El receptor presentó 85 días de sobrevida desde el primer trasplante. En este trasplante sólo se utilizaron los datos del doble trasplante para los promedios de las sumas de las dos unidades de SCU y los datos de la unidad sola utilizada para el trasplante simple se usaron en los promedios de las unidades solas.
- Al tercero de éstos receptores se le realizó un doble trasplante con la infusión continua de ambas unidades, presentándose una falla de injerto tardío al día +36 y perdiendo el injerto por una infección por lo que dos meses después del primer

trasplante se le realizó un trasplante simple con la administración intrahueso de una unidad de SCU presentándose el injerto de la nueva unidad el día +14 y presentando el receptor una sépsis por lo que falleció al día +19 después del segundo trasplante y presentando 74 días de sobrevida desde el primer trasplante. En este trasplante sólo se usaron los datos de las unidades utilizadas en el doble trasplante para los promedios y la unidad intrahueso no fue incluida en los promedios.

De los 17 receptores sometidos a doble trasplante la toma de injerto se logró en 11 receptores (65%) y en 6 receptores no se logró (35%) (Fig.4).

El tiempo para lograr más de 500 neutrófilos absolutos en los 17 trasplantes tuvo una mediana de +21 días (Fig. 12).



Fig.4. Porcentaje de injerto de unidades de SCU provenientes de CordMX en receptores con doble trasplante

En la (Fig. 5) se observa que de los 11 receptores con DTSCU que presentaron injerto, 5 (45.46%) están vivos y 6 (54.54%) murieron.

También se observa que de los 6 receptores con DTSCU que no presentaron injerto, 5 (83.3%) murieron y 1 (16.7%) se encuentra vivo por recuperación de médula propia.

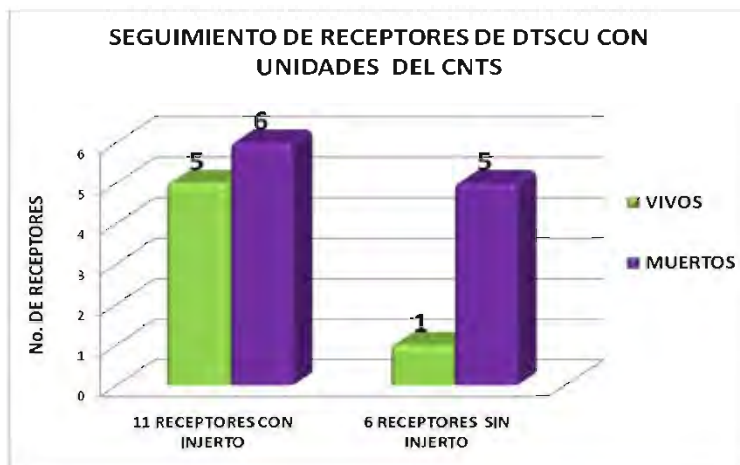


Fig.5 Seguimiento de receptores con DTSCU CON unidades del CNTS

En la (Fig.6) se observan las causas de los decesos en los receptores con DTSCU con unidades provenientes de CordMx que sí presentaron injerto y sus porcentajes.

La mayor causa de muerte en los receptores con trasplante fue de 66% por infección y sépsis, 17% por enfermedad veno oclusiva y 17% por recaída leucémica.



Fig. 6 Causas de muerte en receptores que si presentaron injerto.

Seguimiento de receptores con DTSCU que presentaron injerto antes y después del día +21.

En los 11 DTSCU en los que los receptores presentaron injerto, 7 (63.6%) lo presentaron antes del día +21 y 4 (36.3%) receptores lo presentaron después de este día. (Fig. 7)

De los 7 receptores que presentaron injerto antes del día +21, 4 se encuentran vivos y con una mediana de 225 días de supervivencia libre de enfermedad y los otros 3 receptores murieron (Fig.7) presentando una mediana de 55 días de supervivencia. Las causas de los decesos fueron uno por enfermedad veno oclusiva y dos por infección y sepsis.

En los 4 receptores que presentaron injerto después del día +21, 1 se encuentra vivo, con 122 días de sobrevida y 3 de ellos murieron (Fig.7) presentando una mediana de 71 días de supervivencia. La causa de los decesos fueron dos por infección y sepsis y uno por recaída leucémica.

La mediana de supervivencia de todos los receptores con DTSCU que sí presentaron injerto y que están vivos es de 204 días.

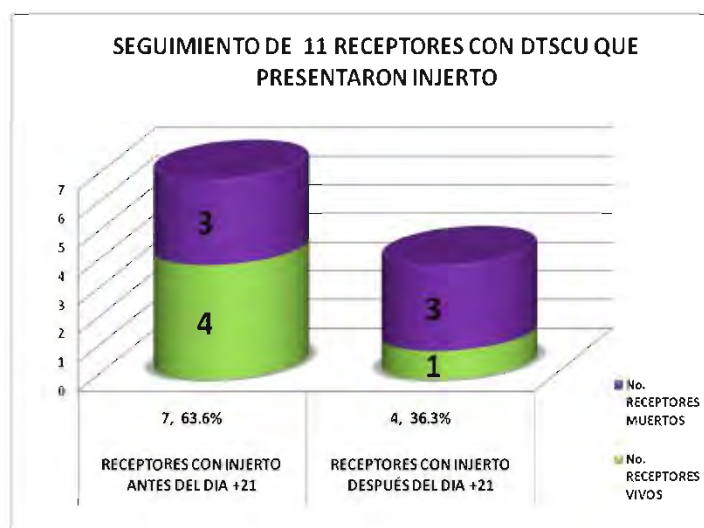


Fig.7 Seguimiento de 11 receptores con DTSCU que presentaron injerto

En la (Fig. 8) se observan los días de sobrevivencia (mediana de 63 días) de los 6 receptores con DTSCU que sí presentaron injerto y que murieron, así como las causas de los decesos y el día en el que se presentó el injerto.

De los 4 receptores que murieron por infección, 2 tuvieron un acondicionamiento mieloablativo (25 y 95 días de sobrevivencia respectivamente) y los otros 2 un acondicionamiento no mieloablativo (42 y 111 días de sobrevivencia respectivamente). El receptor que murió por recaída leucémica tuvo un acondicionamiento no mieloablativo y el que murió por síndrome de lisis tumoral tuvo acondicionamiento mieloablativo.



Fig.8 Causas de muerte y días de sobrevivencia en los 6 receptores con DTSCU que sí presentaron injerto. R.L (Recaída Leucémica), EVO (Enfermedad Venó Oclusiva).

En esta figura también se observa que 2 de los 6 receptores presentan un tiempo de sobrevivencia prolongado a comparación de los demás receptores. Esto es debido a que estos dos receptores perdieron el injerto del primer trasplante, y debido a esto, fue necesaria la administración de un segundo trasplante. De estos receptores el que presentó un tiempo de supervivencia de +95 días tuvo un injerto tardío al día +36 y por esto se le realizó un nuevo trasplante de SCU con la administración de la unidad intrahueso y presentándose el injerto de esta nueva unidad en el día +14.

El receptor que presentó 111 días de supervivencia perdió el injerto del primer trasplante que ocurrió el día +21 debido a la administración errónea de ciclofosfamida en vez de ciclosporina y por esto se le realizó un nuevo trasplante lográndose el injerto de la nueva unidad el día +19.

Seguimiento de receptores con DTSCU que no presentaron injerto.

De los 17 receptores que se sometieron al DTSCU con unidades provenientes de CordMX, 6 no presentaron injerto (Fig.5), 5 de ellos murieron y las causas de los decesos fueron: 2 receptores por sangrado del sistema nervioso central (40%), 1 por insuficiencia cardíaca (20%), 1 por recaída leucémica (20%) y 1 uno por síndrome de lisis tumoral (20%) (Fig.9).

La mediana de supervivencia que presentaron estos receptores fue de 28 días.

El receptor restante que tampoco presentó injerto y que se sometió a un acondicionamiento mieloablativo se encuentra vivo debido a que recuperó su médula propia y tiene un tiempo de supervivencia de 120 días postrasplante.



Fig.9 Causas de muerte en 5 receptores que no presentaron injerto.

En la (Fig. 10) se observan las causas de muerte y los días de sobrevivencia de los 5 receptores con DTSCU con unidades de CordMX que no presentaron injerto.

De estos 5 receptores que no presentaron injerto, 4 tuvieron un régimen de acondicionamiento no mieloablativo y el receptor que murió por síndrome de lisis tumoral tuvo un régimen de acondicionamiento mieloablativo.



Fig.10 Causas de muerte y días de sobrevivencia en 5 receptores sin injerto. SSNC (Sangrado del Sistema Nervioso Central), R.L (Recaída Leucémica), IC. (Insuficiencia Cardíaca).

Seguimiento de receptores con DTSCU con unidades provenientes de CordMX por tipo de acondicionamiento.

Respecto al tipo de acondicionamiento que recibieron los receptores de doble trasplante de SCU con unidades de CordMX nuestros resultados son los siguientes:

De los 17 receptores con DTSCU 9 tuvieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo y 8 un régimen no mieloablativo.

En la (Fig. 11) se observa que de los 9 receptores sometidos a acondicionamiento mieloablativo, 7 (78%) si presentaron injerto y 2 (22%) no lo presentaron y de los 8 receptores con un régimen de acondicionamiento no mieloablativo, 4 (50%) si presentaron injerto y 4 (50%) no lo presentaron.



Fig.11 Injertos en tipo de acondicionamiento.

Como se observa en la (Fig.12), los receptores que tuvieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo tuvieron un promedio de injerto más rápido (+19) comparado con aquellos receptores con régimen no mieloablativo (+26).

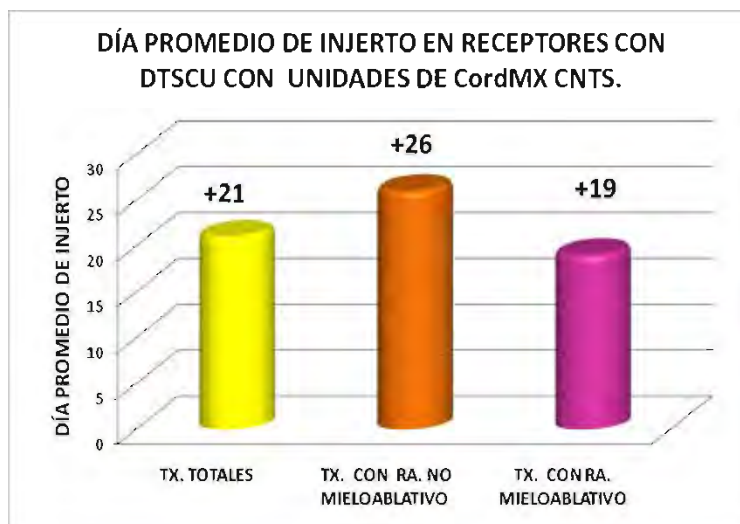


Fig. 12 Día promedio de injerto en receptores con DTSCU con unidades de CordMx CNTS.

De los 7 receptores con acondicionamiento mieloablativo y que si presentaron injerto (Fig. 11), 4 están vivos y 3 murieron (Fig. 13) y de los 4 receptores con acondicionamiento no mieloablativo que si presentaron injerto (Fig. 11), 1 está vivo y los otros 3 murieron. (Fig. 13)



Fig.13 Seguimiento de receptores con injerto en tipo de acondicionamiento

Acondicionamiento mieloablativo

Los 7 receptores (78%) con DTSCU con Unidades de CordMX que tuvieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo y que si presentaron injerto tenían las siguientes enfermedades: 4 con Leucemia linfoblástica aguda, 1 con Leucemia mieloide aguda, 1 con linfoma de Hodgkin y 1 con síndrome mieloproliferativo atípico.

Los 2 (22%) receptores con régimen de acondicionamiento mieloablativo y que no presentaron injerto y tenían las siguientes enfermedades: 1 Leucemia linfoblástica aguda y 1 con Linfoma de Hodgkin. (Fig.14)

RECEPTORES CON ACONDICIONAMIENTO MIELOABLATIVO

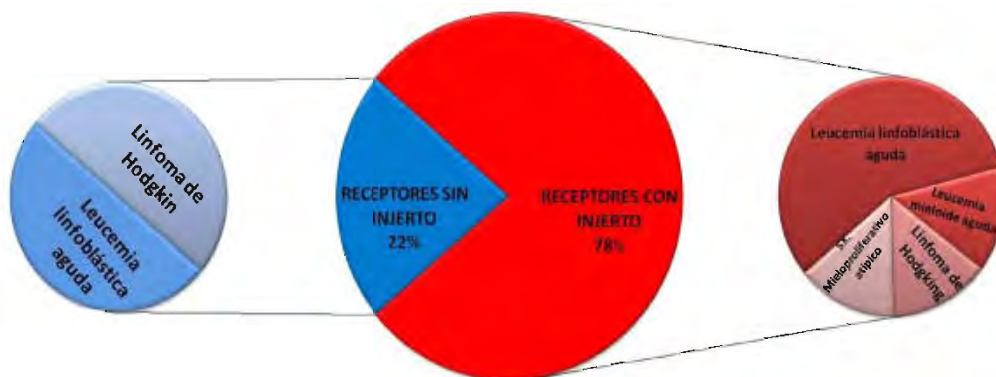


Fig.14 Receptores con acondicionamiento mieloablativo

En la (Fig. 15) se muestran las enfermedades y días de sobrevivencia de los 9 receptores con DTSCU con régimen de acondicionamiento mieloablativo tanto de los receptores que presentaron injerto como de los que no lo presentaron. También se puede observar a aquellos receptores que están vivos (color verde) y a aquellos que están muertos (color morado), así como el día en el que presentaron el injerto.

Cabe recalcar que el receptor que no presentó injerto y que está vivo con 120 días de sobrevivencia es debido a que recuperó su médula propia.

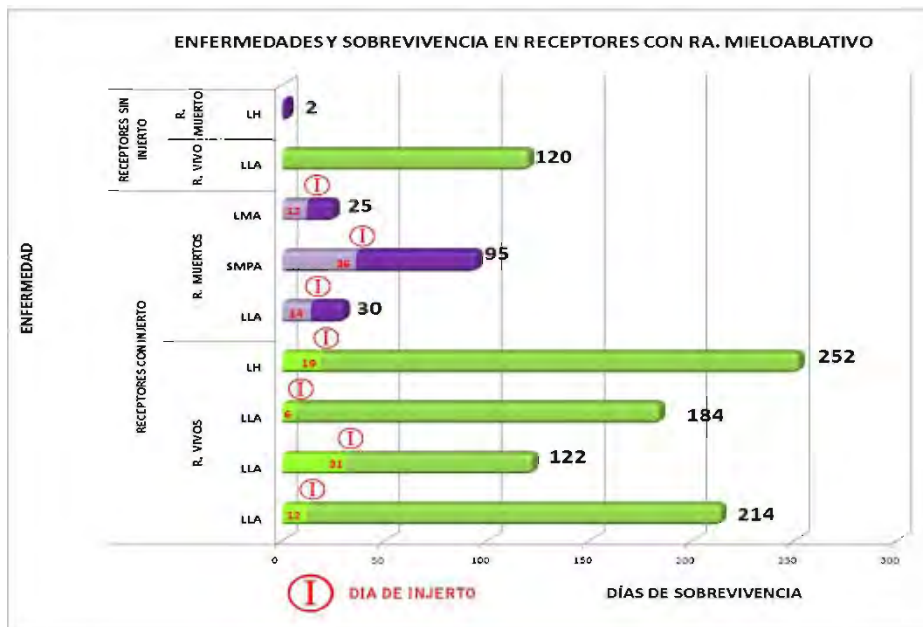


Fig.15 Enfermedades y supervivencia en receptores con régimen de acondicionamiento mieloablativo. LLA (Leucemia linfoblástica aguda), LH (Linfoma de Hodgkin), SMPA (Síndrome mieloproliferativo atípico).

De los 7 receptores con régimen de acondicionamiento mieloablativo y que sí presentaron injerto, 4 (45%) están vivos con una mediana de supervivencia de 193 días y los otros 3(33%) receptores murieron presentaron una mediana de supervivencia de 50 días. (Fig.16).

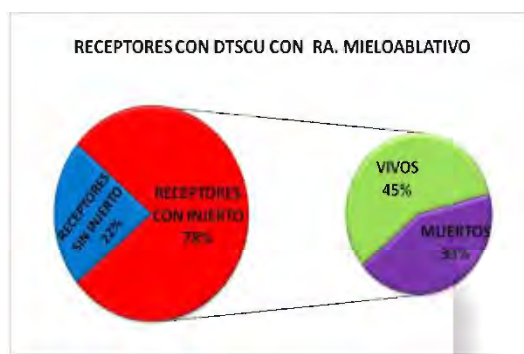


Fig. 16 Receptores con régimen de acondicionamiento mieloablativo

De los 2 receptores con régimen de acondicionamiento mieloablativo y que no presentaron injerto, 1 está vivo porque recuperó su médula propia y tiene 120 días de supervivencia y el otro receptor murió al día +2 postrasplante.

Las causas de los decesos de los receptores con DTSCU que tuvieron un acondicionamiento mieloablativo y que presentaron injerto fueron 2 por infección y sépsis y 1 por Enfermedad Venóclausiva y en el receptor sin injerto el deceso se debió a el síndrome de lisis tumoral (Fig. 17).

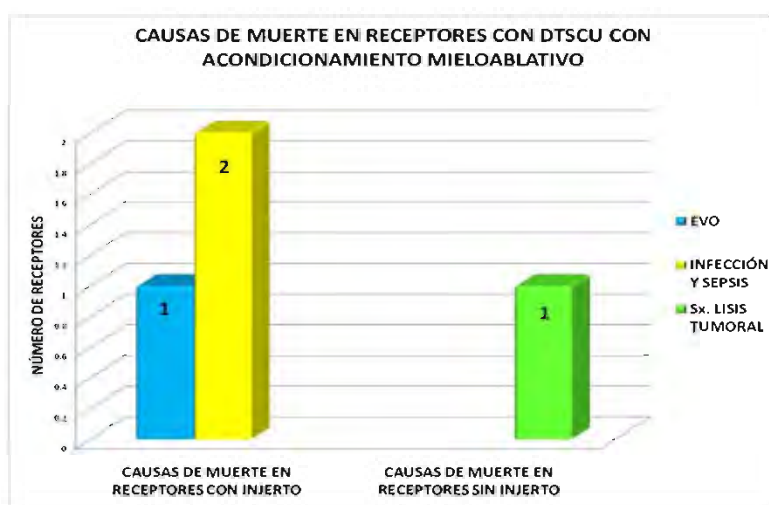


Fig. 17 Causas de muerte en receptores con DTSCU con acondicionamiento mieloablativo.

Acondicionamiento no mieloablativo

De los 8 receptores sometidos a acondicionamiento no mieloablativo, 4 (50%) sí presentaron injerto y 4 (50%) no lo presentaron. (Fig. 11) y (Fig. 18)

Los 4 receptores (50%) con injerto tenían las siguientes enfermedades: 1 con Leucemia linfoblástica aguda, 1 con Leucemia mieloide crónica, 1 con linfoma de Hodgkin y 1 con Leucemia Granulocítica crónica.

Los 4 receptores (50%) con régimen de acondicionamiento no mieloablativo que no presentaron injerto y que fueron 4 tenían las siguientes enfermedades: 1 Leucemia linfoblástica aguda, 1 con Leucemia granulocítica crónica, 1 con Leucemia mielomonocítica crónica y 1 con talasemia (Fig. 18).

RECEPTORES CON ACONDICIONAMIENTO NO MIELOABLATIVO



Fig. 18 Receptores con régimen de acondicionamiento no mieloablativo

En la (Fig. 19) se muestran las enfermedades y días de sobrevivencia de los 8 receptores con DTSCU con régimen de acondicionamiento no mieloablativo tanto de los receptores que presentaron injerto como de los que no lo presentaron. También se puede observar a aquellos receptores que están vivos (color verde) y a aquellos que están muertos (color morado), así como el día en el que presentaron el injerto.

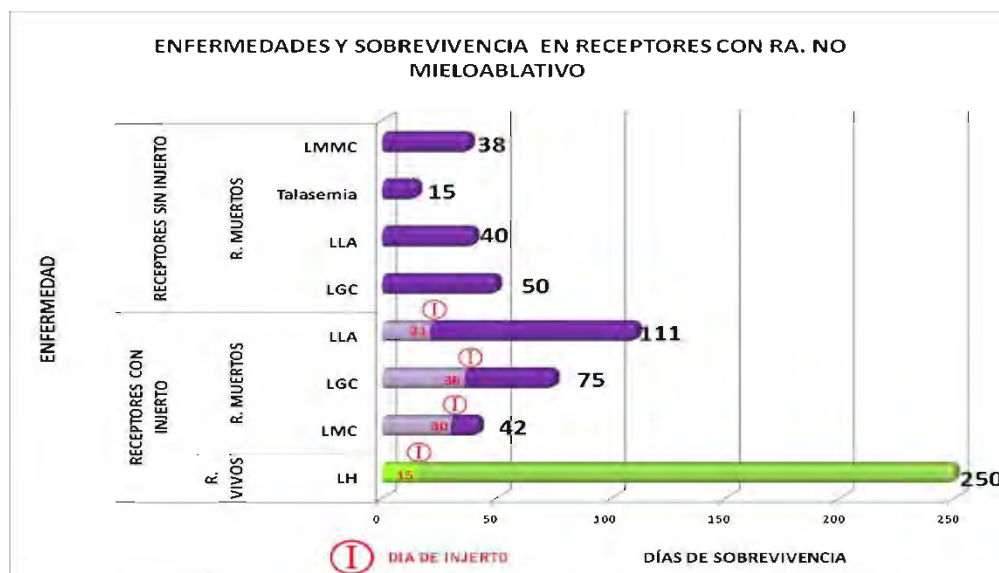


Fig. 19 Enfermedades y supervivencia en receptores con régimen de acondicionamiento no mieloablativo. LH (Linfoma de Hodgkin), LMC (Leucemia mielode crónica), LLA (Leucemia linfoblástica aguda), LGC (Leucemia granulocítica crónica), LMMC (Leucemia mielomonocítica crónica).

De los 4 receptores con injerto 1 (12%) está vivo con una supervivencia de 250 días y los otros tres (38%) murieron y presentaron una mediana de supervivencia de 76 días. (Fig. 20).

De los 4 receptores que no presentaron injerto todos murieron y tuvieron una mediana de supervivencia de 36 días.



Fig. 20 Receptores con DTSCU con régimen de acondicionamiento no mieloablativo.

Las causas de los decesos de los receptores con DTSCU que tuvieron un acondicionamiento no mieloablativo y que presentaron injerto fueron 2 por infección y sépsis y 1 por recaída leucémica y en los receptores sin injerto 2 por sangrado del sistema nervioso central, 1 por recaída leucémica y 1 por insuficiencia cardíaca (Fig. 21).

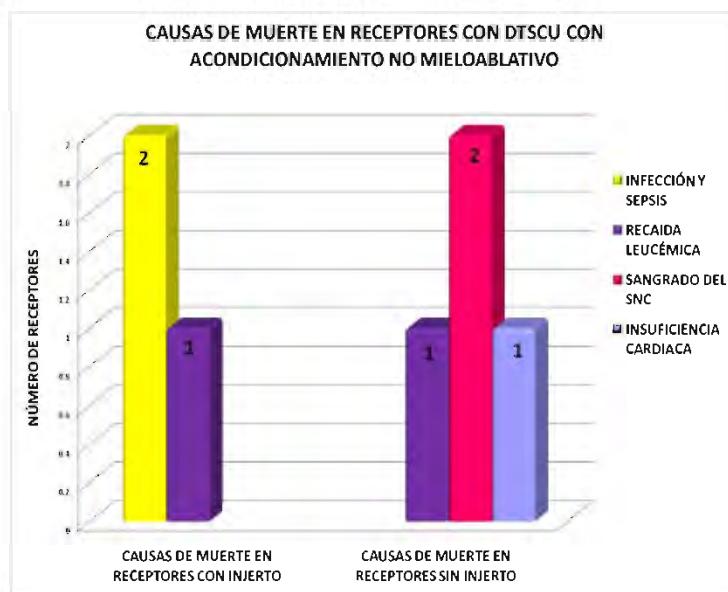


Fig. 21 Causas de muerte en receptores con DTSCU con acondicionamiento no mieloablativo.

Quimerismo de unidades de SCU de CordMx utilizadas en doble trasplante.

De los ocho centros de trasplante que utilizaron unidades de SCU del CNTS para la realización de doble trasplante, sólo tres centros presentaron los datos de las unidades que injertaron en cada doble trasplante, observándose en los tres casos que la unidad que injertó fue aquella que tenía mayor % de E-Clone así como mayor cantidad de UFCX10⁶ y mayor cantidad de dosis de CD34+x10⁶ pos congelación.

También se observó que el centro de trasplante Hospital ABC que utilizó una unidad proveniente del Banco de Cordón de Barcelona y una del CNTS, la unidad que injertó fue la del CNTS. (Fig. 22) Los tres receptores de estos trasplantes se encuentran vivos.

Los datos de las estas unidades se muestran en (Tab.4) mostrándose con color rosa la unidad que injerto.



Tab. 4 Quimerismo de Unidades de SCU usadas en doble trasplante

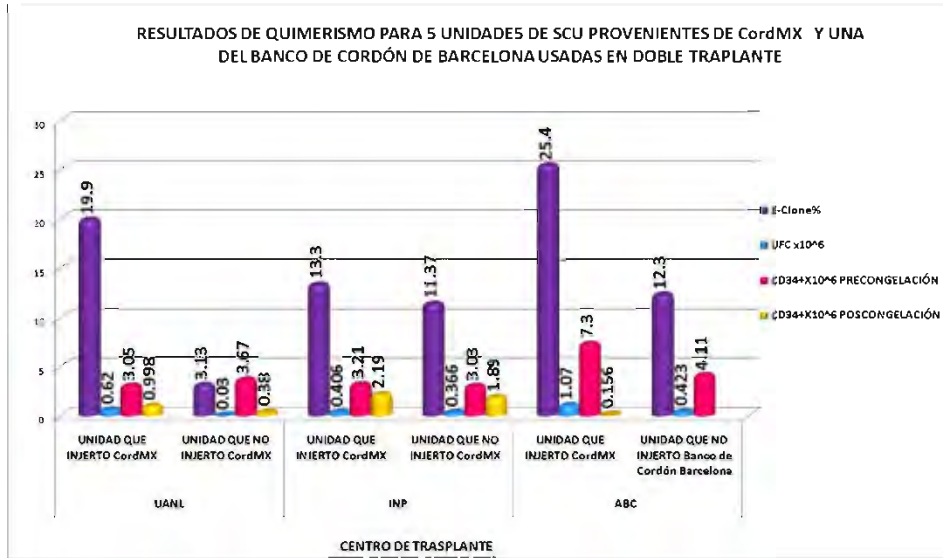


Fig.22 Resultados de Quimerismo para unidades de Sangre de Cordón Umbilical Provenientes de CordMx y una del Banco de Cordón de Barcelona usadas en doble trasplante. UANL (Hospital Universitario de Nuevo León), INP (Instituto Nacional de Pediatría), ABC (Centro Médico ABC).

Éxito de injerto y supervivencia por Centro de Trasplante

La relación de injerto y supervivencia del trasplante fue variable por el centro de trasplante. Se puede observar que el éxito del injerto de unidades de SCU de CordMX usadas en doble trasplante varía conforme el centro de trasplante encontrándose lo siguiente: (Tab. 5), (Fig.23).

RELACIÓN DE INJERTO Y SOBREVIVENCIA EN RECEPTORES CON DTSCU POR CENTRO DE TRASPLANTE					
CENTRO DE TRASPLANTE	NUMERO TOTAL DE TX	TX. CON INJERTO	TX. SIN INJERTO	R. VIVOS	R. MUERTOS
Centro Médico ABC	3	3	0	1	2
Instituto Nacional de Pediatría	1	1	0	1	0
Instituto Nacional de Cancerología	3	2	1	2	1
UMAE No 71 Torreón Coahuila	1	1	0	1	0
Hospital Universitario de Nuevo León UANL	3	1	2	1	2
Centro de Hematología y Medicina de Puebla	4	2	2	0	4
Hospital de Nutrición ZS	1	0	1	1	0
Hospital PEMEX Sur	1	1	0	0	1

Tab.5 Relación de injerto y supervivencia en receptores con DTSCU por centro de trasplante.

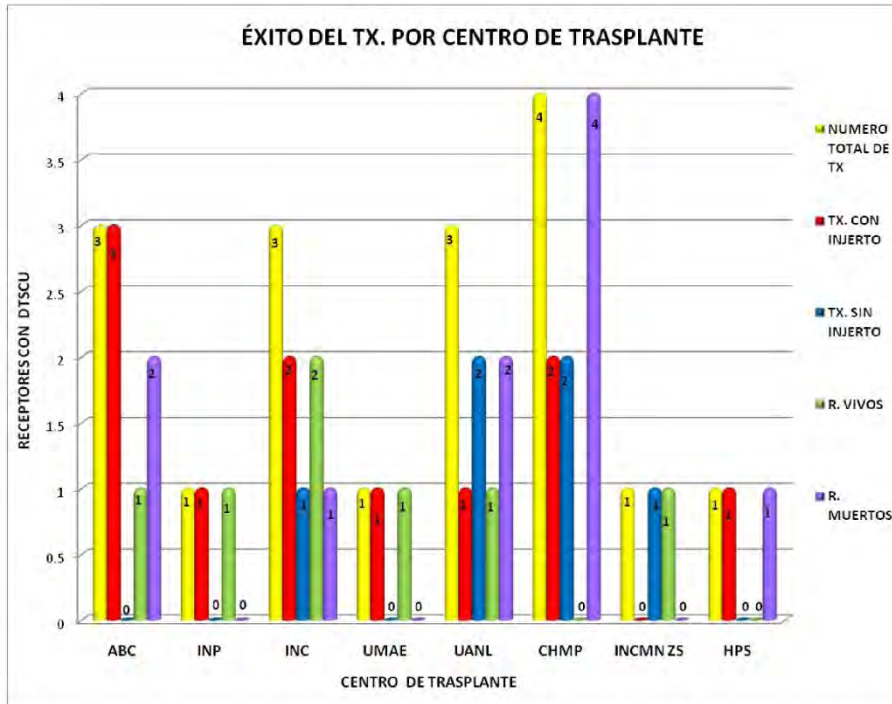


Fig. 20 Éxito de trasplante por centro de trasplante. ABC (Centro Médico ABC), INP (Instituto Nacional de Pediatría), INC (Instituto Nacional de Cancerología), Unidad Médica de Alta Especialidad No 71 Torreón Coahuila), UANL (Hospital Universitario de Nuevo León UANL), CHMP (Centro de Hematología y Medicina de Puebla), INCMN ZS (Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, HPS (Hospital PEMEX Sur).

CAPITULO X

ANALISIS DE RESULTADOS

Calidad de las unidades de SCU infundidas en doble trasplante.

En nuestros resultados podemos observar que los valores promedio de CNTX10⁸, CD34+/21ml, UFCX10⁶ y % E-Clone de las unidades usadas en doble trasplante con injerto no varían mucho de los valores promedio de las unidades usadas en doble trasplante que no presentaron injerto, por lo que se puede afirmar que en este caso la calidad hematopoyética de las unidades de SCU es siempre constante y no influyen en el fracaso del injerto y del trasplante.

La histocompatibilidad de las unidades con el receptor de trasplante también es importante en el DTSCU aunque en nuestros resultados no se encontró ninguna relación con el éxito o fracaso del injerto, así como una relación entre el HLA y la supervivencia.

En CordMx se seleccionan las mejores unidades con HLA 4/6(mínimo), 5/6 y 6/6 basado en la tipificación del HLA (A, B, DR, DQ), con mediana resolución al inicio y alta resolución DR en el control de calidad pretrasplante.

También observamos en nuestros resultados que las unidades que tienen un HLA 4/6 son las que se usaron más en los dobles trasplantes, esto debido a que se prefiere usar una unidad con HLA 4/6 y alto contenido celular que una unidad 6/6 y baja celularidad, además de que es más complicado encontrar una unidad que presente un HLA 6/6 con el receptor y que tenga un alto contenido celular, así es que el uso de unidades con HLA 4/6 no crea gran problema en el DTSCU ya que los linfocitos T del cordón umbilical son más fácilmente tolerantes a los antígenos HLA del huésped debido a su inmadurez funcional por lo que hay menor riesgo de fallo de injerto y EICH.

Receptores de DTSCU

Los receptores de los DTSCU fueron adultos y jóvenes que presentaban un volumen corporal alto, y debido a esto fue necesaria la administración de 2 unidades de SCU para poder cumplir con la dosis celular requerida por kilogramo de receptor.

También en el seguimiento de DTSCU se incluyó un niño de 6 años con un volumen corporal menor en el cual la finalidad de la administración de las dos unidades de SCU era conseguir el efecto injerto contra tumor.

Los 17 dobles trasplantes de SCU con unidades de CordMX se han realizado en 8 diferentes centros de trasplante con receptores, que en su mayoría presentaban enfermedades oncohematológicas y en minoría en receptores con enfermedades no oncohematológicas, y los regímenes de acondicionamiento usados en los receptores fueron tanto mieloablativos como no mieloablativos, debido a que la estructura y manera de proceder de cada centro de trasplante es diferente para cada uno, por lo que tenemos receptores con características especiales y diferentes tipos de acondicionamientos usados. Se hizo el seguimiento de 14 receptores con DTSCU con infusión continua de las unidades de SCU y se considera un doble trasplante normal porque primero se infunde una unidad, y pasados unos minutos se infunde la otra unidad, pero se consideró a 3 receptores con características especiales debido a que sus trasplantes fueron variantes.

- Al primero de estos tres receptores se le realizó un trasplante simple con una sola unidad de SCU, y debido a una falla de injerto primario en donde no existió evidencia de recuperación de neutrófilos fue necesaria la infusión de otra unidad de SCU dos meses después del primer trasplante. Este trasplante se considera doble, debido a que no hay hasta ahora ninguna normatividad que establezca el tiempo exacto que tiene que pasar entre la infusión de una primera unidad de SCU y la segunda unidad infundida para que se considere como doble TX.
- Al segundo de estos receptores se le realizó un doble trasplante con la infusión continua de ambas unidades, presentándose el injerto de una de las dos unidades el día +21 pero por la administración errónea de ciclofosfamida y el efecto citotóxico que produce este sobre células sanas de la sangre, el injerto se perdió por lo que se le realizó un segundo trasplante con una sola unidad de SCU dos meses después del primer trasplante.

- Al tercero de estos receptores se le realizó un doble trasplante con la infusión continua de ambas unidades, presentándose una falla de injerto tardío al día +36 en donde se consideró falla de injerto tardío por la presencia de neutrófilos para el día +36 seguida por una cuenta en declive de neutrófilos hasta llegar a la pancitopenia, por lo que dos meses después del primer trasplante se le realizó un trasplante simple con la administración intrahueso de una unidad de SCU con la finalidad de que las células infundidas presentes en la unidad llegaran más rápido al nicho medular y así poder lograr injertar más rápido.

Éxito de Injerto de unidades de SCU de CordMx usadas en doble trasplante y causas de decesos en receptores.

El éxito de injerto de unidades de SCU provenientes de CordMx usadas en DTSCU se logró en un 65% de los receptores y en el 35% restante no se logró. Como nuestros resultados anteriormente lo demuestran, la falla de injerto en doble trasplante no se debe a la calidad hematopoyética o transfusional de las unidades provenientes de CordMx usadas para doble trasplante y si está fuertemente influenciado por factores como tipo de régimen de acondicionamiento usado, presencia de infecciones y profilaxis, tratamiento de soporte y el Centro de Trasplante.

Las causas de los decesos de los receptores de DTSCU con unidades de CordMx que sí presentaron injerto fueron de 66% de infección, 17% recaída leucémica y 17% enfermedad veno oclusiva, y las causas de muerte de receptores que no presentaron injerto fueron 40% por sangrado del sistema nervioso central, 20% síndrome de lisis tumoral, 20% recaída leucémica, y 20 % por insuficiencia.

Como se explica más adelante, las causas de muerte de los receptores de DTSCU no se encuentran asociadas a la calidad hematopoyética y transfusional de las unidades de CordMX, pero si son influenciadas por factores como: infecciones oportunistas, recaída de la enfermedad, hemorragias, fallo de implante, injerto tardío, insuficiencia cardiaca, toxicidad del régimen de acondicionamiento y centro de trasplante.

Seguimiento de receptores con DTSCU que presentaron injerto antes y después del día +21.

Se hizo la separación de los receptores de DTSCU que presentaron injerto antes de día +21, de los que presentaron injerto después del +21, porque el promedio de injerto de las unidades usadas para trasplante provenientes de CordMx es de +21, y se observa que aquellos receptores con DTSCU que presentan injerto antes del día +21 tiene más probabilidad de sobrevivir que aquellos que lo presentan después de este día, y esto se debe a que aquellos receptores con injerto temprano empiezan a tener una recuperación hematológica e inmunológica más temprana, por lo que estos receptores están menos expuestos a complicaciones por infecciones oportunistas, a la trombocitopenia y la anemia que aquellos receptores en los que el injerto se presenta retrasado, y por lo tanto hay una recuperación medular más lenta y en donde las infecciones y los sangrados pueden llegar a presentar una complicación seria.

Una de las causas de muerte en un receptor con injerto antes del día + 21 fue por Enfermedad Venó Oclusiva, que obedeció a la alta toxicidad del régimen de acondicionamiento utilizado que en este caso fue mieloablativo. Esta enfermedad es producida por la toxicidad causada en el hígado por la quimioterapia y la radioterapia extenuantes, se acumulan toxinas que normalmente son eliminadas por el hígado y se obstruyen las vías hepáticas causando envenenamiento y la muerte.

La otra causa de muerte en dos receptores con injerto antes del día +21, fue debida a infección y sépsis en donde un receptor tuvo un acondicionamiento mieloablativo y el otro no mieloablativo. En el receptor con acondicionamiento mieloablativo que murió por infección y sépsis el injerto ocurrió en día +12 pero ya que este acondicionamiento usado destruye la hematopoyesis normal con daño de neutrófilos, monocitos y macrófagos, así como a las células de la mucosa, además de que causa una pérdida temporal de la integridad de esta barrera y es muy fácil la entrada de bacterias oportunistas lo cual conlleva a serias complicaciones, por ésto si no se usa una adecuada profilaxis y medidas de aislamiento estricto para el receptor hay riesgo elevado de muerte.

En el receptor con acondicionamiento no mieloablativo que murió por infección, el día de injerto se presentó el día +21, pero lo perdió por administración errónea de ciclofosfamida

en vez de ciclosporina como inmunosupresor y se le volvió a realizar un nuevo trasplante con una sola unidad de SCU dos meses después, pero debido seguramente a la alta invasión por colocación de catéteres endovenosos para la administración de tratamientos de soporte y antibióticos profilácticos se favoreció la entrada de agentes patógenos por lo cual se presentó una sépsis y murió. Es por eso que este receptor presenta un tiempo de sobrevida muy prolongado.

Una de las causas de muerte de receptores con injerto después del día +21 fue por recaída leucémica, en donde el receptor tuvo un régimen de acondicionamiento no mieloablativo y donde el injerto se presentó retardado (+36). La muerte se debió a que en el régimen de acondicionamiento no mieloablativo no se destruye completamente las células cancerosas que tienen un tiempo de generación rápido por lo que para un injerto después del día +21, las células cancerosas exceden a las células provenientes del injerto y hay una recaída de la enfermedad.

Otro receptor que murió por infección también tuvo un acondicionamiento no mieloablativo y en donde el injerto se presentó retrasado (+30), por lo que debido a la neutropenia prolongada y al mal tratamiento profiláctico se presentó una infección causándole la muerte al receptor.

Otro receptor que también murió por infección y que tuvo un acondicionamiento mieloablativo presentó injerto tardío en el día +36 por lo que se le administró dos meses después una unidad intrahueso de SCU para lograr una mínima pérdida de CPH y su rápida implantación lográndose el nuevo injerto el día +14 pero debido al alto periodo de neutropenia, y al daño producido en los tejidos por la invasión de catéteres se presentó una sépsis.

Tipo de acondicionamiento

Los receptores de DTSCU fueron separados por tipo de acondicionamiento para su análisis ya que por ser estos tratamientos diferentes no pueden pertenecer a un solo grupo, pero se compararon los resultados obtenidos de los trasplantes en ambos tratamientos.

En los receptores de DTSCU que recibieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo podemos observar que hay un mayor porcentaje de injerto (78%) de las unidades de SCU comparándolos con los receptores que tuvieron acondicionamiento no mieloablativo (50%), esto se explica debido a que el del acondicionamiento mieloablativo persigue tres objetivos:

- **Mielotoxicidad:** que produce la erradicación total de la población celular maligna.
- **Mieloablación:** que destruye la hematopoyesis del paciente, como requisito para dejar espacio físico para el prendimiento de las CPH infundidas.
- **Mielosupresión:** que logra la anulación del sistema inmune del receptor evitando que se rechacen las células infundidas

En el acondicionamiento no mieloablativo o de toxicidad reducida la mieloablación no es completa por lo que se conserva tejido hematopoyético del paciente, y debido a esto hay menos espacio físico para permitir el prendimiento de las CPH infundidas; es de baja mielotoxicidad permitiendo así que no se erradique por completo la población maligna, esto para obtener el efecto injerto contra tumor y logra una mielosupresión suficiente pero no total para permitir que el sistema inmune se deprima y así evitar un ataque frente al injerto.

Por estas razones es que en receptores de DTSCU con acondicionamientos mieloablativos se logra una tasa mayor de injerto que en aquellos que tuvieron un acondicionamiento no mieloablativo.

En los receptores de DTSCU que recibieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo, podemos observar que hay un menor porcentaje de falla de injerto (22%) comparándolo con receptores con acondicionamiento no mieloablativo.

En un receptor de DTSCU con acondicionamiento mieloablativo la falla de injerto se debió a la toxicidad del régimen presentando éste el síndrome de lisis tumoral a los 2 días postrasplante por lo que no hubo tiempo para que se presentara el injerto, y en el otro caso el injerto de las CPH no se presentó debido a que receptor tuvo una recuperación autóloga, esto a causa de que no se logró erradicar por completo su hematopoyesis y tuvo una recuperación autóloga.

En los receptores de DTSCU que recibieron un régimen de acondicionamiento no mieloablativo podemos observar que hay un mayor porcentaje de falla de injerto (50%), y

que se debe a la baja mieloablación del tratamiento , ocasionando así que haya poco espacio en la médula para que las CPH puedan anidar y lograr el prendimiento , esto es por la presencia de la hematopoyesis del receptor. También se debe a que la mielosupresión no es completa ocasionando mecanismos inmunológicos de defensa del receptor contra el implante.

Respecto al día promedio de injerto podemos observar que en receptores de DTSCU con unidades de CordMX con acondicionamiento mieloablativo, éste se presenta más rápido (+19) comparándolo con aquellos que tuvieron un acondicionamiento no mieloablativo (+26).

El primero de los factores que influyen en la rapidez del injerto es la inmunosupresión que en el caso del acondicionamiento mieloablativo es alta, por lo que las CPH no tienen que luchar contra la barrera inmunológica que se da en los trasplantes con acondicionamiento no mieloablativo.

El otro factor es que en el acondicionamiento mieloablativo la destrucción de las células hematopoyéticas es total permitiendo así que las CPH ocupen el nicho medular el cual se encuentra vacío permitiendo el implante; no así el caso del no mieloablativo en donde debido a la baja mieloablación en el nicho medular van a coexistir tanto las células del injerto como las del paciente ocasionando todo esto un obstáculo para las CPH para lograr la anidación, la proliferación in vivo y la diferenciación.

Otro factor importante que también puede alargar el tiempo del prendimiento del injerto son las infecciones.

Respecto a la sobrevivencia de los receptores de DTSCU que presentaron injerto con unidades de CordMx podemos observar que en el régimen de acondicionamiento mieloablativo hay más porcentaje de receptores vivos (57%) que en el régimen de acondicionamiento no mieloablativo (25%), esto es a causa de que en el acondicionamiento mieloablativo se consigue un injerto temprano evitando así las complicaciones derivadas de la citopenia, infecciones y recidivas de la enfermedad, no siendo así en el acondicionamiento no mieloablativo donde el injerto se ve retardado por lo que el tiempo de las citopenias se prolonga y hay mayor exposición a agentes infecciosos, las recidivas de la enfermedad son altas, y hay más riesgos de hemorragias.

Las causas de muerte en receptores con DTSCU que presentaron injerto y tuvieron un acondicionamiento mieloablatoivo fueron de 66.7% de infección y sépsis y 33.3% de Enfermedad Venó Oclusiva.

La enfermedad Venó Oclusiva es una de las complicaciones y una causa de mortalidad relacionada a los acondicionamientos mieloablatoivos, siendo ésta consecuencia de la intensidad del régimen de acondicionamiento y de sus altos efectos tóxicos que conllevan a un daño en órganos, como por ejemplo el hígado.

Las infecciones presentan una de las complicaciones principales y causa mayor de mortalidad en trasplantes con acondicionamiento mieloablatoivo, en el cual a pesar de presentarse un injerto temprano hay una fuerte neutropenia acompañada de daño de las barreras mucosa y cutánea producidas por el tratamiento de acondicionamiento y medidas invasivas, como la colocación de catéteres endovenosos que propician una fácil entrada de agentes infecciosos.

Las infecciones también son causa de una recuperación inmuno hematopoyética lenta, provocando una mayor exposición a agentes infecciosos, así como el uso de Terapias inmunosupresoras que provocan que los tratamientos en contra de las infecciones se hagan difíciles, dado la pobre respuesta inmunitaria presente.

Es por esto que el receptor debe tener medidas de aislamiento estrictas para disminuir el riesgo de infecciones, además de un adecuado uso de antibióticos profilácticos.

La causa de muerte en un receptor con DTSCU con acondicionamiento mieloablatoivo que no presentó injerto fue por el síndrome de lisis tumoral, que es una complicación del acondicionamiento debido a su alta citotoxicidad provocando la muerte precoz del receptor antes del injerto.

Las causas de muerte en receptores con DTSCU que presentaron injerto y tuvieron un acondicionamiento no mieloablatoivo fueron de 66.7% de infección y sépsis, y 33.3% por recaída leucémica.

Las infecciones son una de las causas de complicaciones y mortalidad en los trasplantes que utilizan acondicionamiento no mieloablatoivo, esto debido a que en este tipo de régimen el injerto se ve retardado provocando una prolongada duración de la neutropenia causando una sensibilización a agentes infecciosos.

Las recaídas leucémicas también son un factor importante de mortalidad en trasplantes con acondicionamiento no mieloablativo, debido a que por producir éste una baja mieloabalción las CPH tardan más tiempo en anidar e injertar y debido a su baja mielotoxicidad provoca que la tasa de regeneración de las células residuales leucémicas sea mas rápida que las CPH injertadas, provocando que el efecto injerto contra tumor no sea suficiente para la erradicación de la enfermedad y suscitando así una recidiva de la enfermedad.

Las causas de muerte en los receptores con DTSCU que no presentaron injerto en acondicionamiento no mieloablativo fueron 50% por sangrado del sistema nervioso central, 25% por recaída leucémica y 25% por insuficiencia cardiaca.

Las hemorragias o sangrados constituyen una causa principal de muerte relacionada al trasplante debido a que, por no presentarse el injerto no hay una recuperación hematopoyética que pueda mantener los niveles celulares sanguíneos adecuados en conjunción con el receptor que tiene una médula ósea que no es 100% funcional, por lo que se genera una trombocitopenia que puede llegar a amenazar la vida si no se utilizan transfusiones profilácticas de plaquetas.

La insuficiencia cardiaca en este caso también es consecuencia al fallo de injerto y a la médula ósea del receptor que no es 100% funcional. Estos dos factores producen una anemia severa que si no es corregida adecuadamente mediante transfusiones de concentrado de hematíes, puede causar niveles bajos de oxígeno en órganos vitales como el corazón, y puede llevar a que se presente una insuficiencia cardiaca.

La muerte por recaída leucémica en el caso de receptores de DTSCU que no presentaron injerto se debe a que por no presentarse el injerto no hay recuperación hematopoyética del donante, por lo que el efecto injerto contra tumor no se produce, ocasionando que haya una recidiva de la enfermedad.

Respecto al tipo de enfermedades oncológicas o no oncológicas que presentaban los receptores de DTSCU con unidades de CordMx no se encontró ninguna diferencia para la presencia de injerto sobrevida o mortalidad de los receptores, encontrándose que para el éxito del trasplante tanto para el acondicionamiento mieloablativo y no mieloablativo no influye la enfermedad de base.

Éxito de injerto y supervivencia por centro de trasplante.

El éxito de injerto de las unidades de SCU provenientes de CordMX y del éxito de los dobles trasplantes es variable dependiendo de el centro de trasplante, apreciándose que en los 8 diferentes centros de trasplante que utilizaron unidades de SCU provenientes de CordMx para doble trasplante hay factores que afectan el éxito o fracaso, tanto del injerto de las unidades de SCU como el éxito del trasplante.

Esto es a causa de que la estructura de cada centro de trasplante es diferente y cada uno cuenta con la integración de diferentes factores que son decisivos en el trasplante como lo son: el hecho de que algunas instituciones son privadas y otras públicas, algunas de alta especialidad médica, diferentes tecnologías, instalaciones, calidad de servicio, investigación, compromiso, ética y recursos.

Así pues, aquellos centros que realmente están comprometidos con la salud del paciente y que integran todos estos factores son los que mejores resultados tuvieron en los DTSCU.

Quimerismo de las unidades de SCU de CordMx utilizadas en doble trasplante.

Con los resultados de quimerismo de las unidades utilizadas en DTSCU con unidades de CordMx aunque son pocos, nos dan información valiosa acerca de la unidad que predominará después del trasplante, encontrándose que la dosis de CNT y el grado de histocompatibilidad de las unidades con el receptor no son parámetros que predigan qué unidad es la que predominará después del trasplante, en cambio las unidades que presentaron una mayor dosis pos congelación de CD34+ y por lo tanto un mayor E-Clone y mayor número de UFC hemáticas, son las que tuvieron predominio en el trasplante.

Esto es porque la capacidad clonogénica de las células con fenotipo CD34+ que está evaluada por la formación de unidades formadoras de colonias hemáticas, nos asegura el potencial para reconstruir el tejido hematopoyético, por lo que las unidades de SCU de CordMX cuentan con valores de dosis celulares pos congelación obtenidos de alícuotas de las unidades que serán usadas en trasplantes porque se toma en cuenta que el número de células realmente infundidas es, en ocasiones, muy inferior al número de células determinado antes de la congelación.

También se les realiza a las unidades de SCU estudios clonogénicos que nos ayudan a predecir el posible éxito del trasplante, esto gracias a que en los cultivos las CPH se encuentran en un medio ideal de crecimiento, el cual representaría en gran parte las condiciones que se encuentran en el organismo.

También podemos comparar una vez más que la calidad hematopoyética de las unidades de SCU de CordMx es alta, ya que en un doble trasplante en el cual se usó una unidad proveniente del Banco de Cordón de Barcelona y una unidad de CordMx, la unidad que injertó fue la del CNTS.

La falta de el dato de la dosis de CD34+ pos congelación de la unidad proveniente del Banco de Barcelona no fue impedimento para saber qué unidad injertaría ya que siguió el mismo patrón de los otros dos trasplantes, en donde la unidad que injerto con predominio fue aquella que tuvo una mayor cantidad de UFC y mayor % de E-Clone.

CAPITULO XI

CONCLUSIONES

Se realizó el seguimiento de los dobles trasplantes con unidades provenientes de CordMx CNTS desde el 16 de Marzo del 2005 hasta el 31 de Diciembre del 2008 en pacientes que presentaban un alto volumen corporal, que manifestaban en su mayoría enfermedades onco hematológicas como no onco hematológicas y que recibieron acondicionamientos mieloablativos y no mieloablativos, que por no encontrar la dosis celular requerida/kg de receptor en una sola unidad de SC se les realizó la infusión de dos unidades en diferentes 8 centros de trasplante, observándose que en el 65% de los receptores ocurrió el injerto con un promedio de día de injerto de +21 y se demostró que en receptores de DTSCU en los que no se presentó el injerto no fue debido a la calidad hematopoyética de las unidades de SCU proporcionadas por CordMx, y las causas fueron por tipo de acondicionamiento que recibió el receptor, presencia de infecciones, toxicidad de los acondicionamientos, recuperación autóloga de médula, problemas derivados de la aplasia medular y recidiva de la enfermedad de base.

Las principales causas de muerte en los receptores de DTSCU que presentaron injerto no tienen que ver con la calidad hematopoyética y transfusional de las unidades y son: en su mayoría por infecciones seguido por recaídas leucémicas y enfermedad veno-oclusiva.

Las principales causas de muerte en los receptores de DTSCU que no presentaron injerto son en su mayoría por sangrado del sistema nervioso central seguido de recaída leucémica, insuficiencia cardíaca y síndrome de lisis tumoral.

Se observó que aquellos receptores que presentan un injerto antes del día +21 tienen mayor probabilidad de sobrevivencia que aquellos que lo presentan después.

Se comparó el éxito de injerto y sobrevivencia por tipo de acondicionamiento, encontrándose que hay una mayor proporción de receptores con injerto en el acondicionamiento mieloablativo comparado con el no mieloablativo, se observó que el día de injerto ocurre más rápido en el mieloablativo (+19) que en el no mieloablativo (+26), y por

último hay una mayor proporción de pacientes con injerto vivos en el mieloablativo (57%) comparado con el no mieloablativo(25%).

Se encontró que la unidad que predominará después del trasplante es aquella que tiene una mayor cantidad de dosis pos congelación de CD34+ así como una mayor cantidad de % E-Clone y UFC.

No se encontró ninguna relación con el grado de compatibilidad HLA de las unidades con el receptor para la falla de injerto y sobrevivencia.

Se demostró que el factor centro de trasplante es una variable que influye mucho tanto en el éxito del injerto como en la sobrevida del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Berná G, León-Quinto T, Fuentes E et al. **Ingeniería Celular y Diabetes Mellitus**. Rev Clin Esp 2001; 201:548-56.
- ² Berná G, León-Quinto T, Enseñat-Waser R, Montanya E, Martín F, Soria B. **Stem Cells and Diabetes**. Biomed. Pharmacother 2001; 55:206-12
- ³ Maria Inés Pérez Millán, Alicia Lorenti. **Células Troncales y Regeneración Cardíaca**. MEDICINA (Buenos Aires) 2006; 66:574-582.
- ⁴ Franz Martín, Pilar Vaca, Bernat Soria. **El Islote Pancreático en el Desarrollo y Tratamiento de la Diabetes**. Capítulo 9 Células Troncales en el tratamiento de la diabetes. 142-143.
- ⁵ **CRÓNICA**. Rev. Méd. Chile, 2001, vol.129, no.12, p.1482-1482. ISSN 0034-9887.
- ⁶ Fernández G., M. Soledad. **Células Troncales Embrionarias Humanas: Ciencia, Ética y Legislación**. TECNO VET: Año 8 N°1, Marzo 2002. Disponible en la World Wide Web: http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9528%2526ISID%253D469,00.html
- ⁷ Fernando Flores Guzmán, Jorge Paniagua Solís. **Las Células Madre Embrionarias Totipotenciales**. Gaceta Biomédica 2006 11, 8: 13-4.
- ⁸ Goretti Virgil. **Células Madre**. Neofronteras. 2006. Disponible en la World Wide Web: http://neofronteras.com/?page_id=742
- ⁹ Colaboradores de Wikipedia. **Célula Madre** . Wikipedia, La enciclopedia libre, 2008 Disponible en la World Wide Web: http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=C%C3%A9lula_madre&oldid=21831427.
- ¹⁰ Anzaldúa Arce, Santiago René; María de Lourdes Juárez Mosqueda, Héctor Villaseñor Gaona, María Cristina Ríos Mas, Miguel Ángel Cornejo Cortés, Marco Antonio Meraz Ríos **¿Qué Son las Células Troncales o “Células Madre”?**. . Veterinaria México, 2007 38, 001, 81-104.
- ¹¹ Civin CI, GoreSD. **Antigenic Analysis of Hematopoiesis: a Review**. J Hematother 1993; 2: 137-144.
- ¹² Eugenia Flores-Figueroa, Rosana Pelayo. **Hematopoyesis**, Cancerología 2007 2: 95-107
- ¹³ Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA, Lemichka IR. **A Stem Cell Molecular Signature**. Science 2002;298:601-4.

- ¹⁴ Quesenberry P, Colvin G. **Hematopoietic Stem Cells, Progenitor Cells and Cytokines**. Hematology. Beutler E, Marshall S, Coller B, Kipps T, Selisohn M. Mc Graw Hill, 2001, pp153
- ¹⁵ Rodríguez, Viviana Marcela, Cuellar Adriana, Cuspoca Lyda Marcela et al. **Phenotypical Determinants of Stem Cell Subpopulations Derived from Human umbilical Cord Blood**. Biomédica, Mar. 2006, vol.26, no.1, p.51-60. ISSN 0120-4157.
- ¹⁶ Leitman SF, Read EJ. **Hematopoietic Progenitor Cells**. Seminars of Hematology 33: 341-358, 1996.
- ¹⁷ The Leukemia and Lymphoma Society. **Trasplante de Células Madre Sanguíneas y de Médula Ósea**. Disponible en la World Wide Web: http://www.leukemialymphoma.org/attachments/National/br_1141741000.pdf
- ¹⁸ Juan Carlos Jaime Fagundo, Elvira Dorticós Balea, Valia Pavón Morán y Lázaro Cortina Rosales. **Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas: Tipos, Fuentes e Indicaciones**. Revista Cubana Hematología 2004; 20(2)
- ¹⁹ Ortega Blanco, Margarita. **Estudio del quimerismo y de la enfermedad mínima residual por técnicas citogenéticas y de Fish en pacientes afectos de enfermedades hematológicas sometidos a un trasplante de progenitores hemopoyéticos**. Universidad Autónoma de Barcelona. 2001 . Disponible en la World Wide Web: <http://www.tdx.cat/TDX-0514101-122704>
- ²⁰ Cancer Consultants. **Recolección de células madre**. 1998. Disponible en la World Wide Web: http://cancer.nccs.drtango.com/411es.asp?article=allo_recoleccion&type=tnpv&style=default.css&navType=1&lid=2&otherParams=
- ²¹ National Cancer Institute Fact Sheet. **El trasplante de médula ósea y el trasplante de células madre de sangre periférica: preguntas y respuestas**. Disponible en la World Wide Web: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/hojas-informativas/medula-osea-trasplante-respuestas>
- ²² **Entendiendo al Cáncer y Temas Relacionados: Entendiendo los Trasplantes de Células Madre (Troncales) de la Sangre** . National Cancer Institute. Disponible en la World Wide Web: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/entendiendo/trasplante-celulas-madre/Slide3>
- ²³ López Sánchez, Mara. **Caracterización de las unidades de sangre de cordón procedentes de donantes con patología obstétrica**. 2007. Disponible en la World Wide Web: <http://www.tesisenred.net/TDX-0616108-094157>

- ²⁴ Instituto Nacional del Cancer. USA . **Trasplante de Médula ósea y de Células madre. Preguntas y respuestas. I** Disponible en la World Wide Web: http://www.40principalesenfermedades.com/principales_enfermedades/informacion/88.html
- ²⁵ Nicolás Jouve de la Barred. **La investigación con células troncales adultas.** revista digital de ARBIL Disponible en la World Wide Web: <http://www.arbil.org/arbi-d89.htm>
- ²⁶ Mass. Eva Delia Calderón Garcidueñas, Dr. Rafael Antonio Marín López ,QFB. Javier Fernández Torres ,QFB. Miriam Millán Rocha ,QBP. Rosa Angélica Gómez Romero. **Producción de Unidades de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) de Cordón Umbilical para su uso en Trasplante.** Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea.
- ²⁷ Alberto Olaya Vargas,* Oscar Pérez González **Trasplante de progenitores hematopoyéticos, ¿es una terapia inmunológica?.** Revista Alergia México 2003;L(5):192-7
- ²⁸ **Hematology** Williams. Mc Graw-Hill, Inc., 4ª edición, 1990. capítulo 138, pp: 1860-1865.
- ²⁹ Vergara C, Ulises. **Sistema mayor de histocompatibilidad y respuesta inmune.** Avances en Medicina Veterinaria, Vol.4, N°2, Julio-diciembre, 1989
- ³⁰ Julio César Martínez-Álvarez. **Importancia del CMH en el trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas de Cordón Umbilical y seguimiento del injerto.** Gac Med Mex 2004; 140 (S3)
- ³¹ Brandan, Nora. **Complejo Mayor de Histocompatibilidad.** Universidad Nacional del Nordeste Disponible en la World Wide Web: <http://med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/hla.htm>
- ³² Javier Rodríguez Velázquez. **Teoría de Conjuntos Aplicada a la Caracterización Matemática de Unión de Péptidos al HLA Clase II.** Rev. Cienc. Salud. Bogotá (Colombia) 2008. 6 (1): 9-15
- ³³ NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Entendiendo al Cáncer y Temas Relacionados: Entendiendo los Trasplantes de Células Madre (Troncales) de la Sangre.** Disponible en la World Wide Web: <http://www.nci.nih.gov/espanol/cancer/entendiendo/trasplante-celulas-madre/allpages/print>
- ³⁴ José Antonio Angós **Trasplante de Precursores Hemopoyéticos (T.P.H.)** Boletín Oncológico número 11, vol. 1, año 1999
- ³⁵ David Gómez Almaguer. Guillermo J. Ruiz Arguelles , Gutiérrez Aguirre César Homero, Jaime Pérez José Carlos. **Trasplante no mieloablativo de células progenitoras hematopoyéticas. Mitos y realidades..**Rev Invest Clin 2005 57(2)

- ³⁶ J. J. Rifón. **Trasplante de progenitores hemopoyéticos**. ANALES. Volumen 29, Suplemento 2, 2006. Disponible en la World Wide Web: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol29/sup2/suple13a.html>
- ³⁷ Dr. Juan Carlos Jaime Fagundo, Dra. Elvira Dorticós Balea, Dra. Valia Pavón Morán, Dr. Ariel Jesús Jauma Rojo, Dr. Lázaro Cortina Rosales. **Aspectos inmunológicos del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas**. Rev Cubana Hematol Inmunol Med Transf 2006;22(3)
- ³⁸ Dra.C. Ana María Amor Vigil, Dr. Juan Carlos Jaime Fagundo, Dra. Valia Pavón Morán, Dr. Yrving E. Figueredo Peguero, Dra. Clara Luna Conde, Dr. Mario Wilford de León, Dra. Elvira Dorticós Balea y Dra.C. Gisela Martínez Antuña. **Quimerismo molecular en el trasplante alogénico de células hematopoyéticas. Resultados preliminares**. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Medicina Transfusional. Vol 21 No. 3, 2005
- ³⁹ Francesc Fernández Avilés. **Estudio Secuencial Y Cuantitativo del Quimerismo Hemopoyético en Pacientes Sometidos a un Trasplante de Progenitores Hemopoyéticos con Depleción Linfóide o con Acondicionamiento Sub-Mieloablativo**. 2004 UNIVERSIDAD DE BARCELONA. Disponible en la World Wide Web: http://www.tdr.cesca.es/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0304105-094432//TESIS_F_FERN%C1NDEZ_AVIL%C9S.pdf
- ⁴⁰ Romina Soledad Lana, Verónica Daniela Ortellado, Dra. Cynthia Mariana Villalba Dr. Emilio Alberto Lanari Zubiaur. **Trasplante de Sangre de Cordón Umbilical de Donante no Emparentado**. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina - N° 158 – Junio 2006 Pág. 18-21
- ⁴¹ León Rodríguez Eucario. **El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: un largo camino, desde modelos animales hasta constituir un tratamiento estándar en humanos**. Rev Invest Clin 2005; 57(2) : 129-131
- ⁴² Luciano Rodríguez Gómez **Reconstitución de Productos Hematopoyéticos Criopreservados**. Universidad Autónoma de Barcelona. Disponible en la World Wide Web: http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0213106-200804//lrg1de1.pdf
- ⁴³ CONACYT. **Todo Lo que querías saber del trasplante de células madres**. Disponible en la World Wide Web: <http://www.esmas.com/estilodigital/noticias/392616.html>
- ⁴⁴ Knudtzon S: **In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood**. Blood 1974, 43:357
- ⁴⁵ Rubinstein P. **Why Cord Blood?**. Human Immunology 2006, 67:398-404
- ⁴⁶ Formato Isogamba, Cecilia, Marcos, María Angélica Trevani Hugo et al. **Banco Público de Sangre de Cordón Umbilical**. Acta Bioquím. Clín. Latinoam. 2006, vol.40, no. 4 Disponible en la World Wide Web:

<http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572006000400008&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0325-2957.

⁴⁷ Dr. Jorge Vela Ojeda, Dra Miriam América García Ruiz Esparza, Dr. José Rafael Borbolla Escabaza. **Trasplante de Células Hematopoyéticas**. México 2008 Editorial Prado. ISBN 968-9000-17-4

⁴⁸ Mara López Sánchez. **Caracterización de Las Unidades de Sangre de Cordón**. Procedentes de Donantes con Patología Obstétrica Universidad de Valencia 2006.

⁴⁹ Sánchez VE, Gómez ME. **Trasplante de progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical, una realidad en adultos**. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005; 43 (S1) Disponible en la World Wide Web:<http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051ae.pdf>

⁵⁰ Badell Serra I, Olivé Oliveras T, Madero López L, Muñoz Villa A, Martínez Rubio A, Verdeguer Miralles A, Díaz De Heredia Rubio C, Díaz Pérez M, Cubells Rieró J, Maldonado Regalado M, Ortega Aramburu J. **Trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical en niños**. An Esp Pediatr 2000; 53: 513 – 519

⁵¹ Majhail N.S., Brunstein C.G., Wagner J.E. **Double umbilical cord blood transplantation**. (2006) Current Opinion in Immunology, 18 (5), pp. 571-575.

⁵² Víctor H. Morales, Jorge Milone et al. **Banco de Células Progenitoras Hematopoyéticas de Cordón**. MEDICINA (Buenos Aires) 2001; 61: 843-848