



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO “LA RAZA”

“Efecto de las células mesenquimales en el desarrollo de enfermedad de injerto vs huésped en un grupo piloto de pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de donador relacionado”

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. ADRIANA ELIZABETH RÍOS GUERRERO

Asesores: D. en C. LAURA ARCELIA MONTIEL CERVANTES

DR. JORGE VELA OJEDA

DRA. FLOR DEL CARMEN PÉREZ RETIGUÍN

MÉXICO DF

2015





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR. JESÚS ARENAS OSUNA
DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD

DR. JORGE VELA OJEDA
Titular del curso universitario de Hematología

DRA. ADRIANA ELIZABETH RÍOS GUERRERO
MÉDICO RESIDENTE DE HEMATOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"

PROTOCOLO NÚMERO R-2014-3501-137

ÍNDICE

Resumen	4
Antecedentes Científicos	6
Material y Métodos	13
Resultados	15
Discusión	22
Conclusión	25
Bibliografía	26
Anexos	29

RESUMEN

Título. Efecto de las células mesenquimales en el desarrollo de enfermedad de injerto vs huésped en un grupo piloto de pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de donador relacionado.

Material y Métodos. Grupo piloto, retrospectivo, de noviembre de 2012 a noviembre de 2014. Se obtuvieron muestras de biometría hemática y de cosechas de células tallo de sangre periférica de donadores. Se comparó la cantidad de células mesenquimales del grupo de pacientes con EICH con los de no EICH. Análisis estadístico: estadística descriptiva.

Resultados. Se incluyeron 20 pacientes, 10 mujeres y 10 hombres. La edad promedio fue de 36; 4 tuvieron Anemia Aplásica Grave, 4 Síndrome Mielodisplásico, 4 Leucemia Linfoblástica Aguda, 2 Linfoma de Hodgkin, 2 Leucemia Mieloide Aguda M2, 2 Leucemia Mieloide Crónica, 2 Mieloma Múltiple. Se lograron movilizar las glucoproteínas CD71 (P=.012), CD90 (P=.006), CD105 (P=.00001), CD271 (P=.00004), células nucleadas (P=.0000004), CD34 (P=.0000000001). El 55% presentaron EICH, más frecuentemente grado III (25%). No hubo relación de las glucoproteínas con el estado del paciente y la presencia o no de EICH, los que recibieron más de 69 células/microlitro de CD271 tuvieron mejor supervivencia. El 30% falleció siendo el 50% de Síndrome Mielodisplásico. La supervivencia global fue menor en quienes presentaron EICH (P=.017).

Conclusión. Las células mesenquimales se incrementan al mobilizarse, y a pesar de que no influyen en el estado del paciente y la presencia de EICH, el desarrollar este último disminuye significativamente la supervivencia global.

Palabras clave: células mesenquimales, enfermedad de injerto vs huésped, trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, donador relacionado.

ABSTRACT

Title. Effect of mesenchymal cells in the development of graft-versus-host disease in a pilot patients group undergoing hematopoietic progenitor cells related donor.

Material and Methods. Pilot group, retrospective, from November 2012 to November 2014. Samples of blood count and harvesting stem cells from peripheral blood obtained from donors were obtained. The number of mesenchymal cells in the patients with no GVHD group were compared with the GVHD group. Statistical analysis: descriptive statistics

Results. 20 patients, 10 women and 10 men were included. Mean age was 36. 4 patients had Severe Aplastic Anemia, 4 Myelodysplastic Syndrome, 4 Acute Lymphoblastic Leukemia, 2 Hodgkin's Lymphoma, 2 Acute Myeloid Leukemia M2, 2 Chronic Myeloid Leukemia, 2 Multiple Myeloma. Glycoproteins that were able to mobilize CD71 (P = 0.012), CD90 (P = 0.006), CD105 (P=0.00001), CD271 (P=0.00004) and nucleated cells (P=0.0000004), CD34 (P=0.000000001). 55% had GVHD and 45% non, more frequently grade III (25%). There was no association of glycoproteins with the patient's condition and the presence or not of GVHD, although patients who received more than 69 cells / microliter of CD271 had better survival. 30% of the patients died with 50% of Myelodysplastic Syndrome. Overall survival was lower in those who had GVHD (P=.017).

Conclusion. The mesenchymal cells are increased to mobilize, and although no influence on the patient's condition and the presence of GVHD, developing the latter significantly decreased overall survival.

Keywords: mesenchymal cells, graft vs host hematopoietic progenitor cells, donor related disease.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

Trasplante

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es una terapia en la que se administran progenitores hematopoyéticos, capaces de reconstituir la función normal de la médula ósea en pacientes previamente acondicionados para recibir un injerto. Este procedimiento se utiliza para el tratamiento de neoplasia hematológicas y padecimientos de inmunodeficiencia congénita¹.

El objetivo principal del TCPH es eliminar la enfermedad y garantizar el injerto, resultando en una generación continua de elementos sanguíneos funcionales derivados de las células injertadas. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) de médula ósea de donador no relacionado o de sangre periférica por movilización, a menudo conducen a la enfermedad de injerto contra huésped (EICH), infecciones oportunistas y al fracaso del injerto después del trasplante².

Tipos de Trasplante

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas puede clasificarse en alogénico, autólogo o singénico. Existen algunas ventajas y desventajas inmunológicas entre las que destacan el efecto de injerto contra tumor (EICT) y la enfermedad de injerto contra huésped, respectivamente.

El trasplante alogénico es aquel que se realiza entre individuos de una misma especie. En este se infunden células progenitoras hematopoyéticas de un donador sano a un paciente que previamente ha sido sometido a un régimen de acondicionamiento para eliminar las células tumorales y la respuesta inmune del receptor, para evitar el rechazo del injerto (anexo 1). Entre las ventajas de este tipo de trasplante está que se infunden células progenitoras sanas y puede haber enfermedad de injerto contra tumor, con la desventaja de que existe la posibilidad de enfermedad de injerto contra huésped, y por consiguiente, necesidad de terapia inmunosupresora para evitar se rechace el injerto. Dependiente de la relación entre donador y receptor y la compatibilidad, el trasplante alogénico puede ser:

- a) De familiares parcialmente compatibles: la mayor ventaja de un trasplante haploidéntico es la disponibilidad, sin embargo, aumenta el riesgo de presentar EICH aguda y crónica, y a pesar de depletar los linfocitos T previo al trasplante, no se han tenido resultados muy favorables.
- b) De hermanos HLA-idénticos: es la mejor opción, ya que cada persona hereda un haplotipo de cada uno de sus padres, pero la posibilidad de tener un hermano HLA idéntico es de 25%.
- c) Donador no relacionado: actualmente son los que más se llevan a cabo en el mundo pero no en nuestro país; de preferencia deben ser del mismo sexo y de la misma edad.
- d) En el trasplante singénico, el donante y el receptor son gemelos homocigotos y existe escasa o nula posibilidad de EICH, no es necesaria la inmunosupresión, pero no hay efecto de injerto contra tumor, por lo tanto es mayor la posibilidad de recaer.

La variedad autólogo se realiza a partir de células progenitoras del mismo paciente. La recolección se realiza por aféresis y se reinfunden después de la quimioterapia y/o radioterapia. No hay EICH, no requiere de inmunosupresión post trasplante, pero estas células pueden estar contaminadas con células tumorales. Otra desventaja es que no hay efecto de injerto contra tumor y aumentan las recaídas debido a la enfermedad mínima residual³.

Fuentes de Células Progenitoras Hematopoyéticas

Las células progenitoras hematopoyéticas pueden ser obtenidas de diversos tejidos hematopoyéticos, como médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón umbilical.

La primera fuente para obtener CPH fue la médula ósea, donde era necesario realizar el aspirado en quirófano bajo ambiente estéril, con uso de anestesia, y era un proceso invasivo ya que se realizaban múltiples punciones para obtener la cantidad necesaria de células progenitoras hematopoyéticas.

Actualmente la fuente más utilizada es la sangre periférica a través de la movilización. En condiciones normales, en sangre periférica existe una pequeña

cantidad de progenitores hematopoyéticos pero mediante el uso de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), se movilizan grandes cantidades de CPH de médula ósea a la circulación periférica e induce además su proliferación. Una vez realizada la movilización de los progenitores, se procede a realizar la cosecha de estas células mediante un procedimiento automatizado conocido como aféresis⁴.

Nicho Hematopoyético

La médula ósea está rodeada por el endostio y ocupa las cavidades medulares de los huesos, consta de una red densa de sinusoides vasculares y las células precursoras se encuentran en los espacios extravasculares entre los sinusoides. Las CPH residen en el microambiente de la MO, conocido como nicho hematopoyético el cual provee señales reguladoras fundamentales para el mantenimiento, proliferación y diferenciación para producir la cantidad necesaria de células sanguíneas⁵.

Las células mesenquimales, osteoblastos, células endoteliales, macrófagos y progenitores mesenquimales como las células reticulares ricas en CXCL-12 (CAR) forman los constituyentes celulares del nicho hematopoyético y dan soporte a la hematopoyesis⁶.

El nicho endosteal mantiene a las CPH quiescentes mediante la vía de Tie-2 que es receptor celular de la angiopoyetina-1 y su ligando angiopoyetina 1. Además, las células que se encuentran cerca de esta región son mayoritariamente quiescentes debido al microambiente hipóxico⁷.

Las células reticulares ricas en CXCL-12 participan en la síntesis y mineralización de la matriz extracelular ósea. Actúan como nichos para las CPH, regulan la función de las células progenitoras del nicho hematopoyético a través de la activación de Notch⁸. Una cantidad de CPH reside dentro de los sitios perivasculares cerca de los osteoblastos, en estrecho contacto con la vasculatura endotelial, son capaces de inducir la diferenciación de las células troncales mesenquimales a osteoblastos y participan directamente en la formación ósea y en

la actividad del nicho. Además, se asocian al endotelio sinusoidal por medio de células endoteliales las cuales funcionan como nicho vascular⁹.

Las quimiocinas regulan la migración de las CPH, además participan en la patogénesis de la EICH. CXCL-12, también conocida como factor derivado del estroma-1 y su receptor CXCR-4, participan en el homing y mantenimiento de las CPH, además interviene en el desarrollo de linfocitos B, células dendríticas plasmocitoides y células NK^{10,11}.

Células Mesenquimales

El descubrimiento de las células mesenquimales se le ha acreditado a A.J. Friedenstein. Su trabajo surge desde hace 40 años mediante la observación crítica de la vida postnatal en MO como un reservorio de células tallo hematopoyéticas para tejidos mesenquimales. De la médula ósea, Friedenstein aisló por primera vez células clonogénicas tipo fibroblastos adherentes (unidades formadoras de colonias de fibroblastos CFU-F), con una alta capacidad replicativa in vitro, que era multipotencial y con capacidad de diferenciarse en osteoblastos, condrocitos, adipocitos y estroma de soporte hematopoyético cuando una CFU-F sencilla se re-trasplantaba in vivo. Estos estudios demostraron que la MO contiene una población celular, distinta de las células progenitoras hematopoyéticas, capaces de un automantenimiento y diferenciación prolongadas dentro de linajes celulares mesenquimales múltiples¹². Las células mesenquimales son definidas como células del estroma mesenquimal multipotentes, población de células que proliferan in vitro como células adherentes, con morfología similar a los fibroblastos, que forman colonias in vitro, y que pueden diferenciarse dentro del hueso, cartílago y adipocitos¹³.

Las células mesenquimales que son cultivadas in vitro carecen de marcadores únicos y específicos. Existe un consenso general de que las células mesenquimales no expresan marcadores hematopoyéticos CD45, CD34 y CD14 o de las moléculas coestimuladoras CD80, CD86 y CD40, mientras que sí expresan niveles variables de CD105 (también conocida como endoglina), CD73 (ecto-5'-nucleotidasa), CD44, CD90 (THY1), CD71 (receptor de transferrina), gangliósido

GD2 y CD271 (receptor del factor de crecimiento neural de baja afinidad), y éstas son reconocidas por el anticuerpo monoclonal STRO-1¹⁴.

Formación del Nicho Hematopoyético en la Médula Ósea

El desarrollo de células hematopoyéticas son detenidas en un estado quiescente en la médula ósea hasta que después de un estímulo apropiado, se diferencian y son liberadas en el sistema vascular sinusoidal. En la MO, las células del nicho estromal rodean a las células tallo hematopoyéticas y su progenie. La regulación de la quiescencia de las células progenitoras hematopoyéticas, a través del mantenimiento de las mismas en la fase G0 del ciclo celular en el nicho endosteal y el control de la proliferación, diferenciación y reclutamiento en el nicho vascular también se le atribuyen a las células estromales^{15,16}.

Actividad Antiproliferativa

Las células estromales progenitoras preservan las células tallo hematopoyéticas mediante el mantenimiento de las mismas en estado quiescente. La modulación de la respuesta de las células T mediante fibroblastos es desencadenada por interferón gamma, lo que indica que las células estromales en los tejidos conectivos pueden estar relacionadas en la homeostasis de las poblaciones de leucocitos periféricos^{17,18}.

Enfermedad de Injerto contra Huésped

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una complicación grave de trasplante alogénico, debido a incompatibilidad en el sistema HLA, polimorfismos en genes no HLA y por antígenos menores de histocompatibilidad del receptor, originando daño de diferente severidad a órganos y tejidos del hospedero. Generalmente, se puede clasificar como aguda, cuando su presentación es en los primeros 100 días posterior al trasplante alogénico, y crónica cuando se presenta más allá del día +100 posterior al trasplante alogénico¹⁹.

Las condiciones para EICH comienzan cuando se administra el régimen de acondicionamiento mieloablativo, quimioterapia e irradiación corporal total (ICT)

para eliminar las células tumorales y suprimir el sistema inmune del hospedero para prevenir el rechazo del injerto, todo ello, causa daño tisular en la mucosa intestinal e hígado, entre otros. Las células activadas por el daño liberan citocinas proinflamatorias como interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), factor estimulante de colonias de granulocitos-monocitos (GM-CSF), interferón gamma (IFN- γ), que aumentan la expresión de moléculas del MHC, además, mayor alorreconocimiento de los linfocitos T por aumento de antígenos del donador debido al daño tisular²⁰.

La siguiente fase del EICH es la inducción y expansión, que se caracteriza por alorreactividad de los linfocitos T del donador. Los linfocitos T CD4⁺ reconocen antígenos extraños mediante la presentación por las moléculas MCH clase II, en el caso de los linfocitos T CD8⁺ mediante moléculas del MCH clase I. Estos necesitan dos señales para su activación, la unión del receptor de linfocitos T (TCR) con el péptido alogénico presentado por moléculas MHC del hospedero, así como señales coestimuladoras derivadas de las células presentadoras de antígenos (CPA).

Las células estimulan a los linfocitos T mediante IL-1 y señales coestimuladoras para producir IL-2 y su receptor, IL-2R. La IL-2 induce que la clona alogénica T se expanda y diferencia a linfocitos efectores. En este proceso participan moléculas de adhesión del endotelio para favorecer el contacto MHC-antígeno-TCR, principalmente E-selectina, antígeno tardío 4 (VLA-4), molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), molécula de adhesión de plaquetas y célula endotelial 1 (PECAM-1) y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1)²¹.

La fase efectora, en la que se dañan los tejidos y órganos mediante mecanismos directos o indirectos. Una respuesta tipo Th1 aumentará la activación de linfocitos T citotóxicos (LTc) desarrollando EICH, mientras que una Th2 permitirá una respuesta humoral previniendo la enfermedad.

Cuando se realizan trasplantes HLA compatibles y se presenta EICH, éste se debe a incompatibilidad entre los antígenos menores de histocompatibilidad (miHLA), de los cuales, principalmente el antígeno HA-1, es el más relacionado con EICH²². De acuerdo a la sitio de daño, se clasifica en diferentes grados de severidad.

Grados de EICH

Órgano	Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV
Piel	Rash <25% de SC	Rash 25-50% de SC	Eritrodermia generalizada	Eritrodermia generalizada con bullas y descamación
Hígado	Bilirrubina total 2-3 mg/dL	Bilirrubina total 3.1-6 mg/dL	Bilirrubina total 6.1-15 mg/dL	Bilirrubina total >15 mg/dL
Intestino	Diarrea >500 <1000 mL	Diarrea >1000 <1500 mL	Diarrea >1500 mL	Dolor abdominal intenso con o sin íleo

MATERIAL Y MÉTODOS

Objetivo general

Comparar la cantidad de células mesenquimales infundidas entre los que presentaron EICH y los que no presentaron EICH en los pacientes sometidos a Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas de donador relacionado.

Diseño del estudio. Grupo piloto / Retrospectivo

De noviembre de 2012 a noviembre de 2014 se incluyeron a pacientes que habían sido trasplantados en variedad alogénico y las muestras de sus donadores, del servicio de Hematología en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional La Raza. Se realizó la medición de las glucoproteínas de las muestras de los donadores con determinaciones basales, posterior a la movilización con factor estimulante de colonias de granulocitos y de células infundidas con un citómetro de flujo. Los resultados se registraron en la hoja de captura de datos. Se realizó revisión de expedientes clínicos de pacientes, para obtener datos sobre enfermedad hematológica, sexo del donador, presencia o no de EICH y estado actual del paciente (vivo o muerto). Los datos fueron vaciados en la hoja de recolección de datos para su análisis estadístico.

Criterios de Selección

Criterios de inclusión

1. Pacientes sometidos a trasplante alogénico de células progenitoras de sangre periférica, previa aprobación del Comité Multidisciplinario de Trasplante de Médula Ósea del Hospital de Especialidades del CMN La Raza.
2. Por ser un estudio retrospectivo no requiere de consentimiento informado.
3. Edad mayor de 16 y menores de 65 años. Pruebas para VIH, Hepatitis B, Hepatitis C y Citomegalovirus negativas.
4. Donador HLA compatible 6/6.

Criterios de exclusión

1. Pacientes que pierdan la vigencia al IMSS.
2. Pacientes que decidan abandonar el programa de trasplante.

Análisis de Datos

Se realizó un análisis descriptivo de la información utilizando medidas de proporciones, tendencia central y dispersión (media, desviación estándar, mediana, percentiles 25 y 75%). Se compararon los resultados de la cantidad de células mesenquimales del grupo de pacientes con no EICH con la cantidad de células mesenquimales del grupo de pacientes con EICH con una prueba de *t de student* . Se consideró como estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

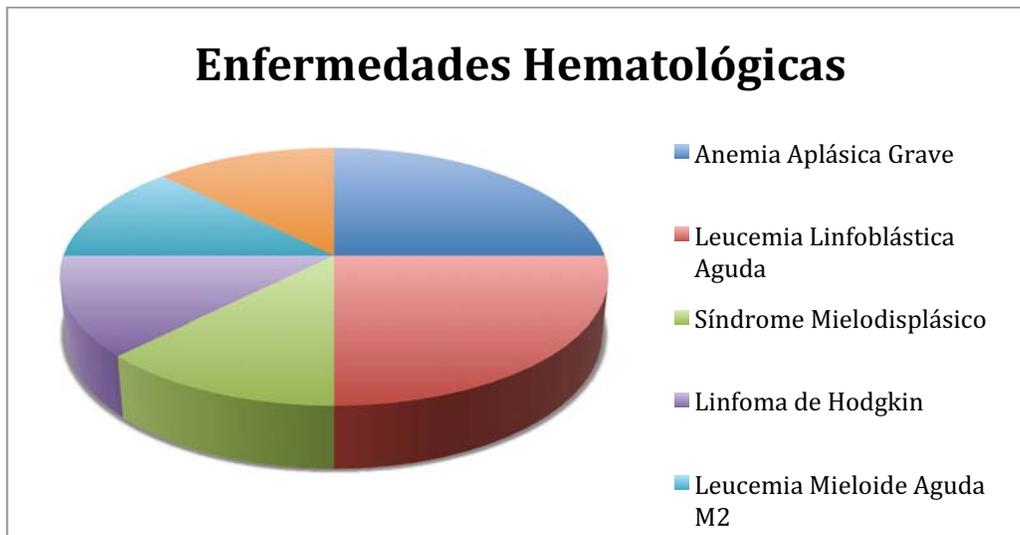
Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, abierto, longitudinal, en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional La Raza. Se incluyeron un total de 20 muestras obtenidas de donadores relacionados de los pacientes del servicio de Hematología trasplantados en variedad alogénico, en el periodo comprendido de noviembre de 2012 a noviembre de 2014. De los 20 pacientes estudiados, el 50% de los pacientes fueron mujeres (10 pacientes) y el 50% fueron hombres (10 pacientes). Las características generales de los pacientes se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de los Pacientes

Características del Grupo	No. de Pacientes
Sexo	
Masculino	10
Femenino	10
Sexo donador	
Masculino	10
Femenino	10
Edad promedio (rango)	36 (17-65)
Enfermedad	
Anemia Aplásica Grave	4
Leucemia Linfoblástica Aguda	4
Síndrome Mielodisplásico	4
Linfoma de Hodgkin	2
Leucemia Mieloide Aguda M2	2
Leucemia Mieloide Crónica	2
Mieloma Múltiple	2
Donador	
Relacionado	20
Grado EICH	
Grado I	2
Grado II	0
Grado III	6
Grado IV	3

De acuerdo a la enfermedad hematológica, el 20% (4) tenían Anemia Aplásica Grave, el 20% (4) Leucemia Linfoblástica Aguda, el 20% (4) Síndrome Mielodisplásico, 10% (2) Linfoma de Hodgkin, 10% (2) Leucemia Mieloide Aguda variedad M2, 10% (2) Leucemia Mieloide Crónica y 10% (2) Mieloma Múltiple (ver Gráfica 1).

Gráfica 1



Movilización de Células Progenitoras Mesenquimales

Se cuantificaron cada una de las glucoproteínas analizadas en estado basal, posterior a movilización y en las células infundidas (Anexos II y III). Al aplicar el factor estimulante de colonias de granulocitos, las células tuvieron un incremento significativamente estadístico posterior a la movilización, siendo la $P=.0000000001$ en células nucleadas y $P=.0000004$ en células CD34. En las glucoproteínas también hubo significancia estadística en CD71 con una $P=.012$, CD90, con una $P=.006$, CD105, con una $P=.00001$ y CD271, con una $P=.00004$. A pesar de que se observó un incremento en los niveles de CD73, éste no fue de manera significativa (Tabla 2).

Tabla 2. Características de Células Mesenquimales

Célula	Media	Desviación Estándar	Valor Mínimo	Valor Máximo	P
CN	6296	1698.42	3170	10150	
CN movilizada	35885	11181.62	11200	53480	.0000000001
CD34	3.97	2.74	.10	11.5	
CD34 movilizada	39.34	20.98	11.7	83.8	.00000004
CD71	82.49	114.92	.76	392.9	
CD71 movilizada	5205.67	8214.99	28.05	27428.12	.012
CD73	378.81	881.97	2.67	3353.2	
CD73 movilizada	1973.98	4557.13	20.46	17262.95	.146
CD90	95.4	125.68	2.19	448.03	
CD90 movilizada	4565.3	6458.87	27.83	19468.35	.006
CD105	1846.49	1320.02	68.22	5018.48	
CD105 movilizada	17995.5	12123.85	518.02	40531.6	.00001
CD271	8.9	15.36	2.41	73.14	
CD271 movilizada	48.18	27.88	11.95	113.28	.00004

Células Infundidas a los Pacientes

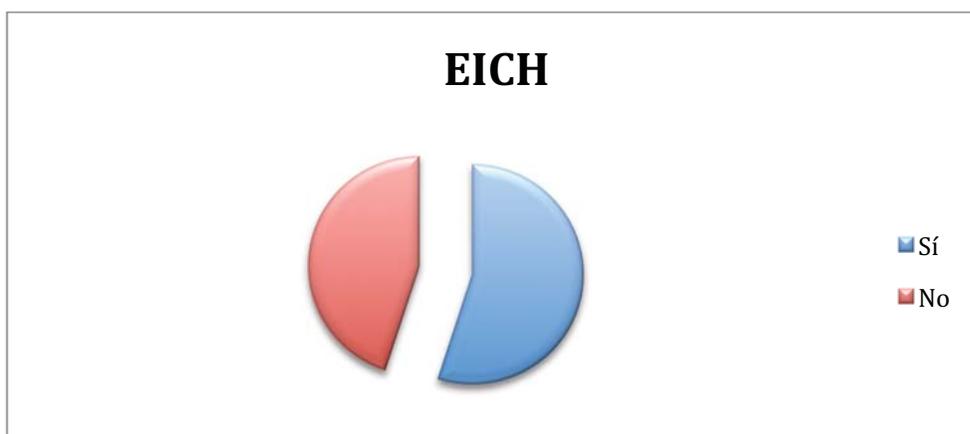
Se realizó un análisis de las células infundidas de los donadores en los pacientes trasplantados, obteniendo las medias y los rangos mínimos y máximos de las mismas (Tabla 3).

Tabla 3. Características de Células Infundidas

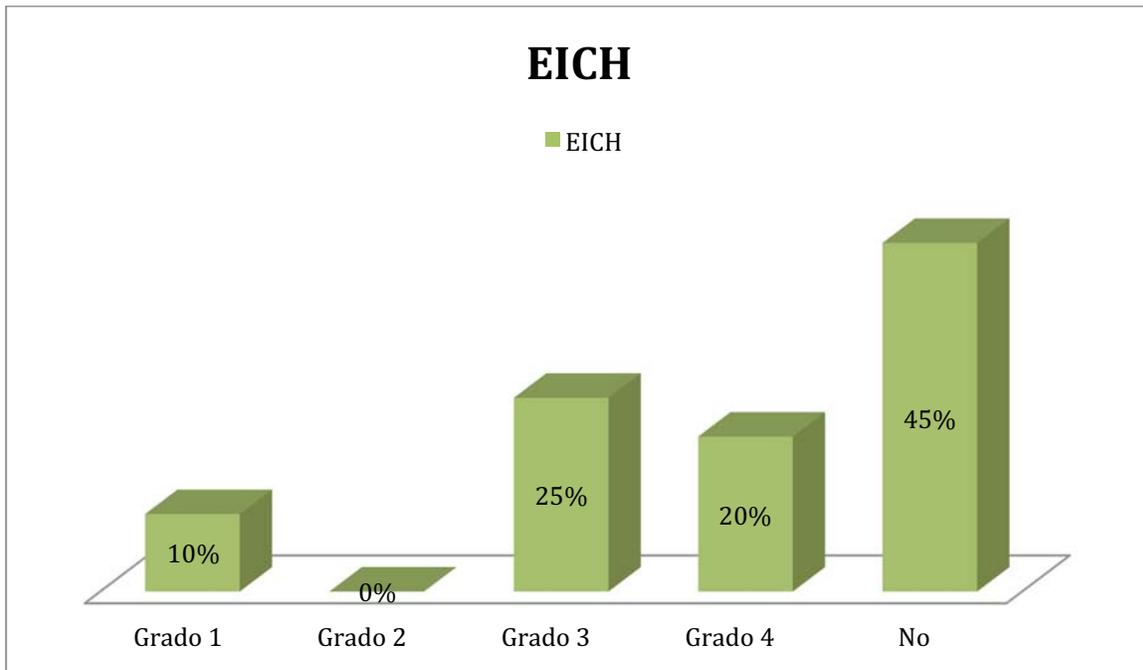
Célula	Media	Mediana	Desviación Estándar	Valor Mínimo	Valor Máximo
CN	260763	255310	58298.13	167700	371100
CD34	7.51	7.4	3.55	2.32	17.19
CD71	10244.81	3645.33	22468.82	179.9	102469.12
CD73	6999.93	3717.53	8402.52	46.25	27789.37
CD90	29010.24	6756.21	51933.53	112.26	185714.07
CD105	59822.21	54520.22	43021.89	6544.52	139968.2
CD271	794.52	273.24	1562.47	22.04	7152.91

De los 20 pacientes en el estudio, el 55% (11 pacientes) presentaron Enfermedad de Injerto contra Huésped (EICH) y el 45% (9 pacientes) no presentaron EICH (Gráfica 2). De acuerdo al grado de severidad, el 10% (2) presentó grado I, el 25% (5) presentó grado III, el 20% (4) grado IV, y ninguno presentó grado II (Gráfica 3). De los pacientes que presentaron EICH, el 27% (3) tenían diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda, el 27% (3) de Síndrome Mielodisplásico, el 19% (2) presentaban Leucemia Mieloide Crónica, el 9% (1) tenían diagnóstico de Anemia Aplásica Grave, el 9% (1) de Mieloma Múltiple, y el 9% de Leucemia Mieloide Aguda M2.

Gráfica 2. Casos de EICH

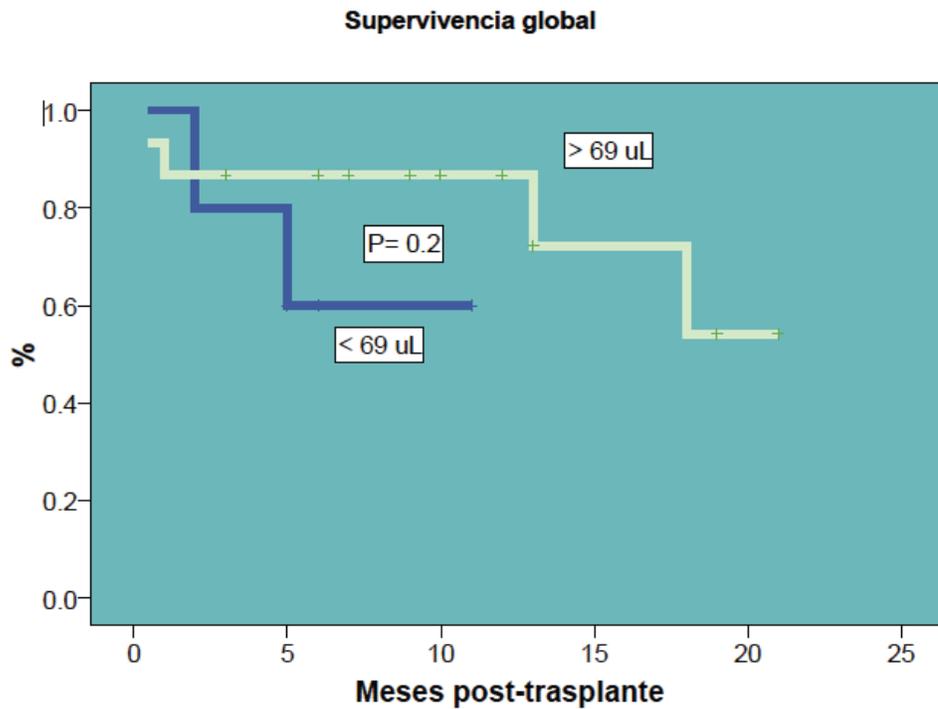


Gráfica 3. Grados de EICH



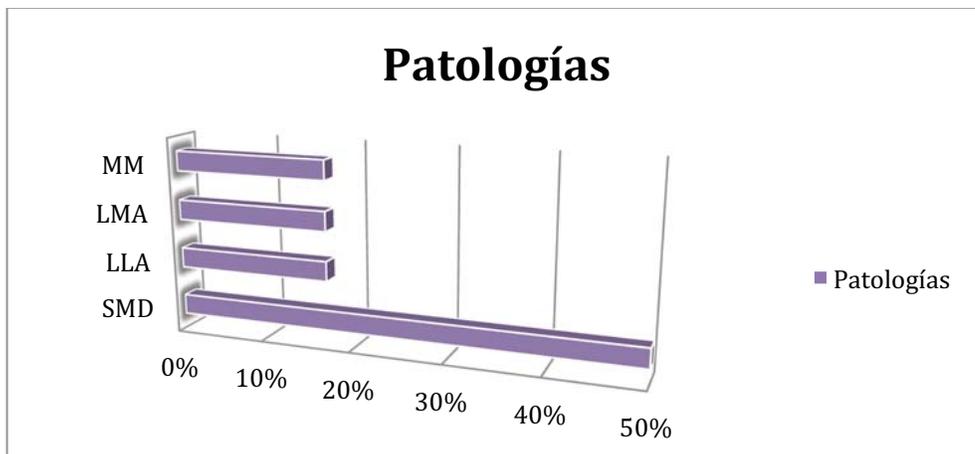
Se realizó una curva ROC de cada una de las glucoproteínas estudiadas para determinar el punto de corte en relación al estado del paciente (vivo o muerto), y a la presencia o no de EICH. De acuerdo al área bajo la curva de dicho punto de corte, no se encontró significancia estadística en CD34 (punto de corte 4 células/microlitro, $P=.946$), CD71 (punto de corte 340 células/microlitro, $P=.524$), CD90 (punto de corte 280 células/microlitro, $P=.802$). Para CD271 el área bajo la curva, fue de 0.6. Se realizó curva de supervivencia en relación a la cantidad de pacientes q habían recibido células infundidas por arriba o por debajo del punto de corte de 69 células/microlitro, y se encontró una curva de supervivencia no significativa ($P=.274$). Sin embargo, existe con tendencia a que los pacientes que recibieron una dosis mayor a 69 células/microlitro tuvieron mejor supervivencia. (16.6 meses, CI 95% rango 12.8-20.3 meses), que los que recibieron una dosis menor (8 meses, CI 95% rango 4.6-11.3 meses) (Gráfica 4).

Gráfica 4. Supervivencia Global Asociada a CD271



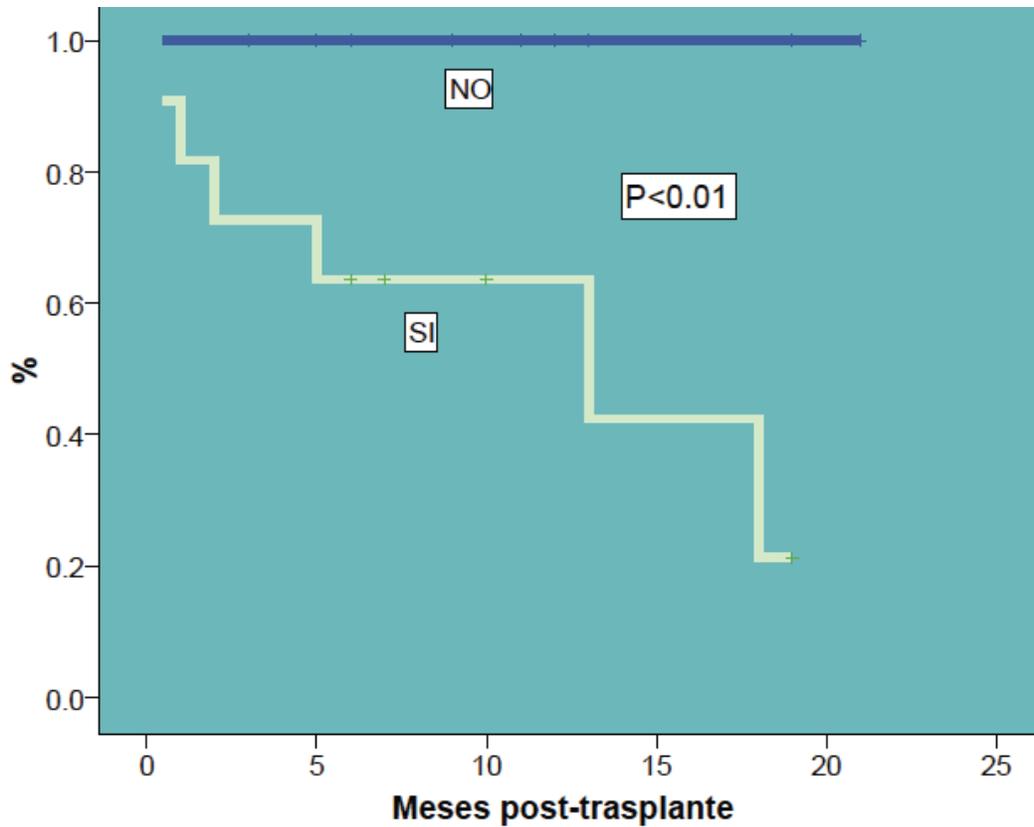
Durante el estudio el 30% (6) de los pacientes fallecieron por complicaciones relacionadas al trasplante y el 70% (14) sobrevivieron. De los pacientes que fallecieron, el 50% (3) contaban con diagnóstico de Síndrome Mielodisplásico, y el otro 50% (3) era representado por Leucemia Mieloide Aguda M2, Mieloma Múltiple y Leucemia Linfoblástica Aguda (Gráfica 5).

Gráfica 5. Defunciones por Patologías



La supervivencia global relacionada a EICH, es significativamente menor en aquellos pacientes que presentan EICH en el periodo post-trasplante con una $P=.017$ (Gráfica 6). En este estudio se encontró que el sexo del donador no influyó en la supervivencia global de los pacientes, por una $P=.709$.

Gráfica 6. Supervivencia Global



DISCUSIÓN

Con este estudio se establece la relación entre las células mesenquimales y el menor desarrollo de enfermedad de injerto contra hospedero (EICH), en 20 pacientes trasplantados en variedad alogénico de donador relacionado a lo largo de 2 años. Si bien el tratamiento profiláctico con distintos inmunosupresores ha disminuido la incidencia de la enfermedad, la presencia de ésta, incrementa la tasa de mortalidad relacionada al trasplante. De acuerdo a la literatura, las células mesenquimales como parte del microambiente hematopoyético han sido un determinante para mejorar el tiempo de injerto y la disminución del riesgo de EICH^{24,25}.

Los diagnósticos hematológicos pueden ser variables; en nuestro estudio se realizó trasplante alogénico en 5 patologías distintas, siendo las más frecuentes la Anemia Aplásica Grave y la Leucemia Linfoblástica Aguda. Aunque si englobamos a las 3 variedades de leucemias, en general ésta sería la patología más trasplantada en nuestra unidad, lo cual concuerda con la literatura internacional²⁴.

En diversos estudios se ha determinado que las células mesenquimales expresan CD105, CD90, CD71, CD73, CD271 y son negativas para CD34, lo cual fue corroborado en este estudio al tener un incremento significativo de cada una de estas glucoproteínas, posterior a la movilización con factor estimulante de colonias de granulocitos. En los ensayos clínicos y reportes publicados por grandes centros dedicados a Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas, sólo se hace mención sobre el uso de células mesenquimales reconocidas por la presencia de los marcadores expresados en porcentajes mayores al 95%. Sin embargo, no existen estudios donde se realice la medición mediante células/microlitro de cada uno de los marcadores, y si existe una correlación entre estos y el desarrollo de EICH. Por lo que, éste sería el primer estudio enfocado a la determinación cuantitativa e individualizada de los mismos²⁶.

En este estudio no se demostró que la expresión de los marcadores influyera en la supervivencia del paciente al final del estudio. Pero, es importante recalcar, que se observó en aquellos pacientes con expresión de CD271 por arriba del punto de corte, una tendencia a presentar una supervivencia más prolongada que los que

tenían por debajo del punto de corte. Lo que se menciona en la bibliografía es que si bien no se conoce del todo la función del marcador CD271, se ha observado que su expresión determina casi un 100% de pureza en célula mesenquimal. De acuerdo a esto, se podría inferir, que a mayor pureza, menor alorreactividad de linfocitos T, por lo tanto, menor incidencia de EICH²⁷.

Otro punto importante, fue el análisis que se realizó para determinar la relación del sexo del donador y la mayor presentación de EICH, no encontrando en este estudio dicha relación. Esto difiere de la literatura, donde ya se han establecido factores de riesgo que incrementan la aparición de Enfermedad de Injerto contra Hospedero, como son la disparidad del sexo entre donador y receptor, la cantidad de células movilizadas infundidas, el acondicionamiento y el tipo de trasplante (donador relacionado, no relacionado, de cordón umbilical, haploidéntico)²⁸.

Como análisis adicional, se valoró la supervivencia de los pacientes, encontrando en nuestro estudio que casi una tercera parte de los pacientes falleció al término del mismo, y la causa de las muertes fue la presencia de EICH. Con lo que se concluye, que aquellos pacientes que presentan EICH tienen una supervivencia menor, y los que no desarrollan EICH sobreviven libres de enfermedad. Esto se equipara a estudios internacionales, donde se ha determinado que el EICH se presenta en el 20 al 70% de los casos, y que la respuesta al tratamiento de primera elección (esteroide) varía del 18 al 35%; sin embargo, en dado caso de no responder al esteroide, la supervivencia a 1 año varía del 10 al 30%²⁹.

Además, cabe resaltar, que los pacientes que más presentaron EICH fueron los que tenían diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda y Síndrome Mielodisplásico, lo que concuerda con estudios, donde se relaciona al acondicionamiento. Otro punto importante, es que casi el 70% de los pacientes que fallecieron contaban con diagnóstico de Síndrome Mielodisplásico. Esto podría tener sesgo, ya que los pacientes que se trasplantan con esta patología, tienen un pronóstico malo de acuerdo al índice pronóstico internacional, por múltiples alteraciones citogenéticas, con una supervivencia de la enfermedad per se, de 0.8-

1.6 años. Por lo que, sería difícil determinar si el EICH es el determinante principal de la muerte²⁹.

Aunque los resultados de movilización de glucoproteínas no fueron estadísticamente significativos, la elevación de CD271, podría servirnos como determinante, para elegir qué pacientes deben ser tratados con una terapia inmunosupresora más intensa, con el fin de disminuir la presencia de EICH. Es necesario realizar un estudio que incluya más sujetos de estudio y por un periodo de seguimiento más largo, y así, confirmar o descartar cada uno de los resultados aquí obtenidos.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con nuestros resultados, la aplicación de factor estimulante de colonias de granulocitos provoca un incremento significativo de las células mesenquimales, corroborado por la medición de sus principales glucoproteínas. Si bien no influye la mayor infusión de las mismas en la presencia de EICH, sí se observó un incremento importante en la supervivencia en aquellos pacientes en los que la cifra de CD271 era por arriba del punto de corte. Además, se corroboró que el desarrollo de Enfermedad de Injerto vs Huésped, disminuye grandemente la supervivencia global de los pacientes.

BIBLIOGRAFIA

1. Vela-Ojeda J, García Ruiz M, Borbolla-Escoboza J. Trasplante de células hematopoyéticas. Pp 109. Ed. Prado, 2008.
2. Apperley J, Carreras E, Gluckman E. Haematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. Pp74. Ed. ESH., 2012.
3. Ljungman P, Bregni M, Brune M, et al. Allogenic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: Current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:219-234.
4. Korbling M, Freireich E. 25 years of peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 2011;117:6411-6416.
5. Zhang J, Niu C, Ye L, et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003;425(6960):836-841.
6. Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H, et al. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the haematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity* 2010;33(3):387-399.
7. Rehn M, Olsson A, Reckzeh K, et al. Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor regulates murine haematopoietic stem cell function in the low-oxygenic niche. *Blood* 2011;118(6):1534-1543.
8. Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003;425(6960):841-846.
9. Nagasawa T, Omatsu Y, Sugiyama T. Control of haematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells. *Trends Immunol* 2011;32(7):315-320.
10. Kohara H, Omatsu Y, Sugiyama T, et al. Development of plasmacytoid dendritic cells in bone marrow stromal cell niche requires CXCL12-CXCR4 chemokine signaling. *Blood* 2007;110(13):4153-4160.
11. Noda M, Omatsu Y, Sugiyama T, et al. CXCL12-CXCR4 chemokine signaling is essential for NK-cell development in adult mice. *Blood* 2011;117(2):451-458.
12. Afanasyev B., Elstner E., Zander A. A. J. Friedenstein, founder of the mesenchymal stem cell concept. *CCT* 2009;1(3):35-38.
13. Dominici M, Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8(4):315-317.
14. Williams A. Hare J. Mesenchymal Stem Cells: Biology, Pathophysiology, Translational Findings, and Therapeutic Implications for Cardiac Disease. *Circ Res.* 2011;109:923-940.

15. Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nature Rev. Immunol.* 2006;6:93–106.
16. Kiel M, Morrison S. Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *Nature Rev. Immunol* 2008;8:290–301.
17. Jones S, Horwood N, Cope A, et al. The antiproliferative effect of mesenchymal stem cells is a fundamental property shared by all stromal cells. *Immunol* 2007;179:2824–2831.
18. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood* 2011;117:3214–3219.
19. Kwan W, Hashimoto D, Paz-Artal E, et al. Antigen-presenting cell-derived complement modulates graft-versus-host disease. *J Clin Invest* 2012;122(6):2234–2238.
20. Mescher MF, Curtsinger JM, Agarwal P, et al. Signals required for programming effector and memory development by CD8+ T cells *Immunol Rev* 2006;211:81-92.
21. Tseng LH, Lin MT, Hansen JA, et al. Correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Blood* 2007; 109(3):1322-1330.
22. Tormin A et. Characterization of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells (MSC) based on gene expression profiling of functionally defined MSC subsets. *Cytotherapy* 11(2);114-28.
23. Dawson B, Trapp RG. Preguntas de investigación acerca de dos grupos separados o independientes. Cap 6. Bioestadística médica. Manual Moderno. 3a Edición. 2002. Pp: 145-177.
24. Kuzmina L, Petinati N, Parovichnikova E, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells for the prophylaxis of acute graft-versus-host disease – A phase II study. *Stem Cells International* 2012(2012);1-8.
25. Kim E, Kim N, Cho S. The potential use of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Experimental and Molecular Medicine* 2013;45:1-10.
26. Boxal S, Jones E. Markers for characterization of bone marrow multipotential stromal cells. *Stem Cells International* 2012(2012);1-12.
27. Kebriaei P, Isola L, Bahceci E, et al. Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:804-811.
28. Yoo H-S, Yi T, Cho Y-K, et al. Mesenchymal stem cell lines isolated by different isolation methods show variations in the regulation of graft-versus-host disease.

Immune Network 2013;13(4):133-140.

29. Dignan F, Clark A, Amrolia P, et al. Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. *British Journal of Haematology* 2012;1-16.

ANEXO I

Régimen de Acondicionamiento

El régimen de acondicionamiento en el trasplante de CPH juega un papel fundamental para lograr el éxito de éste. Los objetivos principales son eliminar la enfermedad o clona maligna y proporcionar un estado de inmunosupresión con la finalidad de impedir el rechazo del injerto (Vela-Ojeda y cols. 2008).

En el acondicionamiento mieloablativo el paciente recibe dosis máximas tolerables de quimioterapia y/o radioterapia con la finalidad de eliminar las células tumorales, pero su efecto es general, eliminando así la totalidad de las células normales de la MO. Este acondicionamiento se lleva a cabo en 50 a 60% de los TCPH alogénicos (tablas 2 y 3).

Tabla 2. Regímenes de quimioterapia a dosis altas utilizadas en TCPH

Régimen	Dosis total	Días
Bu/Cy	16 mg/kg; 200 mg/kg	-9, -8, -7, -6, -5, -4, -3, -2
Cy/GAT	200 mg/kg; 90 mg/kg	-7, -6, -5, -4, -3, -2
Melfalán	100-200 mg/m ²	-1
Bu/Mel	16 mg/kg; 140 mg/kg	-5, -4, -3, -2, -1
BEAM		
BCNU	300 mg/m ²	-6
Etopósido	400-800 mg/m ²	-5, -4, -3, -2
Citarabina	800-1600 mg/m ²	-5, -4, -3, -2
Melfalán	140 mg/m ²	-1
CBV		
Carmustina	300-600 mg/m ²	-8, -7, -6
Etopósido	750-2400 mg/m ²	-8, -7, -6
Ciclofosfamida	4.8-7.2 g/m ²	-5, -4, -3, -2
BEAC		
BCNU	300 mg/m ²	-6
Etopósido	600-800 mg/m ²	-5, -4, -3, -2
Citarabina	800 mg/m ²	-5, -4, -3, -2

Ciclofosfamida	4.5-7.5 g/m ²	-4, -3, -2
BAVC		
BCNU	800 mg/m ²	-6
Amsacrina	450 mg/m ²	-5, -4, -3
Etopósido	450 mg/m ²	-5, -4, -3
Citarabina	900 mg/m ²	-5, -4, -3
MCC		
Mitoxantrone	75 mg/m ²	-8, -6, -4
Carboplatino	1.5 g/m ²	-8, -7, -6, -5, -4
Ciclofosfamida	120 mg/m ²	-8, -6, -4
ICE		
Ifosfamida	15 mg/m ²	-6, -5, -4, -3
Carboplatino	1.8 g/m ²	-6, -5, -4
Etopósido	1.5 g/m ²	-6, -5, -4
CEP		
Ciclofosfamida	4.5-5.2 g/m ²	-5
Etopósido	750-1200 mg/m ²	-5, -4, -3
Cisplatino	120-180 mg/m ²	-5, -4, -3

BCNU: bis-cloroetil nitrorea; Bu: busulfán; Cy: ciclofosfamida; GAT: globulina antitímocito; Mel: melfalán. Fuente: Vela-Ojeda, 2008.

Tabla 3. Dosificación de irradiación corporal total utilizada en TCPH

Dosis	Días	Dosis total
Única	1	2-8 Gy
Fraccionada	3	10-14 Gy
Hiper-fraccionada	4	14-15 Gy

Gy: Greys. Fuente: Vela-Ojeda, 2008.

Anexo II. Hoja de Captura de Datos

P A C I E N T E	F E C H A	Basal sin G-CSF						
		CN $\times 10^6/\mu\text{L}$	CD34/ μL	CD71/ μL	CD73/ μL	CD90/ μL	CD105/ μL	CD271/ μL
1	21/11/12	5920	5.9	0.758	272.88	15.16	68.22	4
2	13/06/13	4710	1.8	116.2	3353.2	3.32	84.66	3.32
3	19/06/13	5880	3.5	139.32	61.92	178.02	1466.73	73.143
4	26/06/13	7640	5.7	11.748	76.362	11.214	3113.22	5.874
5	30/07/13	7290	1.6	42.63	566.37	140.679	3172.89	6.09
6	04/09/13	4680	0.1	17.061	18.15	76.23	1310.43	7.26
7	28/10/13	8600	7.4	13.78	75.79	34.45	2418.39	13.78
8	21/11/13	10150	11.5	12.375	8.25	8.25	5018.475	8.25
9	28/01/14	5070	0.98	15.3	15.3	22.338	1481.04	3.06
10	25/02/14	6080	2.3	17.27	26.062	43.332	913.426	4.396
11	04/03/14	3170	4.8	21.62	37.72	52.9	397.44	7.59
12	03/06/14	5260	4.1	3.219	20.9235	195.3933	1258.629	3.219
13	18/06/14	6800	6.6	2.666	2.666	41.8562	1604.932	2.666
14	24/06/14	4740	5.1	3.612	5.2976	55.1432	1121.6464	2.408
15	25/06/14	8100	2.4	242.2324	143.8084	2.1872	3071.3756	5.468
16	24/07/14	7130	3.1	36.1548	17.8596	21.78	371.5668	4.356
17	22/07/14	4590	0.8	60.8166	74.3314	125.1588	1689.9376	2.938
18	27/08/14	5260	4.3	310.777	2427.4453	36.6163	2517.2937	4.9232
19	04/09/14	8080	1.8	392.8986	142.6977	396.0981	3960.981	6.399
20	23/09/14	6770	5.8	189.4769	229.2246	448.0299	1888.5946	8.8757

P A C I E N T E	F E C H A	Movilización con G-CSF						
		CN $\times 10^6/\mu\text{L}$	CD34/ μL	CD71/ μL	CD73/ μL	CD90/ μL	CD105/ μL	CD271/ μL
1	21/11/12	51370	11.9	268.974	463.233	49.81	518.024	64.753
2	13/06/13	11200	11.7	445.05	144.9	1521.45	6935.535	12.42
3	19/06/13	33610	44.9	857.36	3184.48	61.24	25292.12	30.62
4	26/06/13	53480	70.3	744.3	1339.74	18007.098	37810.44	49.62
5	30/07/13	45910	56.1	326.83	12419.54	280.14	39733.19	93.38
6	04/09/13	31410	19.6	29.58	62.118	2526.132	21622.98	29.58
7	28/10/13	34920	33.7	24484.35	62.7	19468.35	8715.3	62.7
8	21/11/13	30330	30.1	28.05	199.155	4768.5	16100.7	28.05
9	28/01/14	20150	13.4	2506.302	256.131	3159.522	9543.888	39.537
10	25/02/14	31380	29.8	69.075	174.062	408.924	15577.794	113.283
11	04/03/14	30800	40.15	10686.72	17262.949	27.83	15342.679	41.745
12	03/06/14	24530	43.6	5118.5916	20.458	184.122	11681.518	20.458
13	18/06/14	31490	48.7	489.687	80.465	217.4854	2842.0238	11.9548
14	24/06/14	36330	23.2	15407.714	129.7842	12146.47	21663.978	33.278
15	25/06/14	43920	83.8	27428.118	42.0794	15695.6162	21001.446	87.9842
16	24/07/14	36910	69.9	798.2128	537.5062	7048.734	15899.884	32.186
17	22/07/14	40380	26.7	1198.0647	167.6592	338.8113	13028.517	34.929
18	27/08/14	27510	35.9	2136.8331	23.769	463.4955	3363.3135	83.1915
19	04/09/14	50000	27.3	8570.35	156.255	4512.455	40531.6	47.35
20	23/09/14	52070	66.1	2519.37	2752.645	419.895	32705.155	46.655

P A C I E N T E	F E C H A	Infusión						
		CN $\times 10^6/\mu\text{L}$	CD34/ μL	CD71/ μL	CD73/ μL	CD90/ μL	CD105/ μL	CD271/ μL
1	21/11/12	328150	2.32	962.37	10456.02	1872.72	11262.33	208.08
2	13/06/13	240700	3.31	2377.1	25456.58	100270.4	111723.7	7152.91
3	19/06/13	236900	17.19	6504.99	19514.97	244.5	56750.43	672.93
4	26/06/13	358540	8.65	243.6	4043.76	34518.12	121069.2	243.6
5	30/07/13	271200	10.78	179.9	2122.82	13132.7	112797.3	737.59
6	04/09/13	295300	3.39	22008.84	926.688	185714.067	76915.104	1187.319
7	28/10/13	371100	6.01	11407.1	3391.3	143667.8	139968.2	924.9
8	21/11/13	314400	9.6	302.89	5149.13	302.89	56640.43	302.89
9	28/01/14	248110	4.05	14312.22	1633.061	6422.15	50863.428	73.396
10	25/02/14	321700	9.08	12449.45	6662.89	20461.61	20169.5	1571.83
11	04/03/14	182780	6.09	370.458	5455.836	112.26	66525.276	1133.826
12	03/06/14	182020	5.2	3399.6665	874.603	5967.0495	35407.315	394.982
13	18/06/14	265000	10.75	3949.1937	946.8827	18568.1388	122540.478	623.5569
14	24/06/14	167700	10.12	1560.855	290.1354	2398.2078	7459.0506	22.0356
15	25/06/14	244400	8.67	3891.0024	850.296	491.016	6628.716	35.928
16	24/07/14	195480	10.7	2718.334	8155.002	19715.9166	35738.097	79.951
17	22/07/14	262510	4.7	9734.4619	14186.5207	15016.865	52400.0254	176.669
18	27/08/14	285500	4.82	4157.9649	46.251	7090.2783	6544.5165	64.7514
19	04/09/14	230460	7.64	102469.1222	27789.3693	3689.2092	79384.8313	133.667
20	23/09/14	213310	7.17	1896.77	2046.515	549.065	25656.31	149.745

Anexo III. Recolección de Datos

No.	Edad	Diagnóstico	Fecha Trasplante	Donador	EICH	Defunción
1	30	Anemia Grave Aplásica	21-11-12	Mujer	No	No
2	33	Anemia Grave Aplásica	13-06-13	Hombre	Cutáneo GI	No
3	42	Síndrome Mielodisplásico	19-06-13	Hombre	Gastrointestinal GIII Cutáneo GIII Hepático GIII	Sí
4	31	Leucemia Aguda M2 Mieloide	26-06-13	Hombre	No	No
5	24	Leucemia Aguda M2 Mieloide	30-07-13	Mujer	Gastrointestinal GIV Cutáneo GIV Hepático GIV	Sí
6	54	Mieloma Múltiple	04-09-13	Mujer	Hepático GIII	Sí
7	17	Linfoma de Hodgkin	28-10-13	Mujer	No	No
8	52	Síndrome Mielodisplásico	21-11-13	Hombre	No	No
9	33	Anemia Grave Aplásica	28-01-14	Mujer	No	No
10	32	Leucemia Linfoblástica Aguda	25-02-14	Hombre	Cutáneo GI Gastrointestinal GI	No
11	65	Mieloma Múltiple	04-03-14	Mujer	No	No
12	35	Leucemia Linfoblástica Aguda	03-06-14	Hombre	Cutáneo GIII Hepático GIII	No
13	47	Leucemia Crónica Mieloide	18-06-14	Mujer	Cutáneo GIII Gastrointestinal GIII	No
14	35	Leucemia Linfoblástica	24-06-14	Mujer	Hepático GIII	Sí

Aguda							
15	40	Linfoma Hodgkin	de	25-06-14	Hombre	No	No
16	35	Leucemia Crónica	Mieloide	24-07-14	Mujer	Cutáneo GIV Hepático GIV Gastrointestinal GIV	No
17	19	Anemia Grave	Aplásica	22-08-14	Hombre	No	No
18	42	Síndrome Mielodisplásico		27-08-14	Hombre	Cutáneo GIV Hepático GIV	Sí
19	41	Síndrome Mielodisplásico		04-09-14	Hombre	Gastrointestinal GIV Cutáneo GIV	Sí
20	18	Leucemia linfoblástica Aguda		23-09-14	Mujer	No	No