



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS  
PROVENIENTES DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL EN UNA  
INMUNODEFICIENCIA COMBINADA SEVERA (PROBABLE SÍNDROME  
DE OMENN) SEGUIMIENTO DE UN CASO Y SU VENTAJA FRENTE A  
OTRAS FUENTES DE DONACIÓN**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**OMAR DANIEL REYES SÁNCHEZ**



**MÉXICO, D.F.**

**AÑO 2012**



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:**           **Profesor: RODOLFO PASTELIN PALACIOS**

**VOCAL:**               **Profesor: EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS**

**SECRETARIO:**       **Profesor: ARACELI MENDIETA REGIS**

**1er. SUPLENTE:**     **Profesor: JULIO CESAR MARTINEZ ALVAREZ**

**2° SUPLENTE:**       **Profesor: GIBRAN PEREZ MONTESINOS**

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**FACULTAD DE QUIMICA**

### **ASESOR DEL TEMA:**

**E. B. C. EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS** \_\_\_\_\_

### **SUSTENTANTE:**

**OMAR DANIEL REYES SÁNCHEZ** \_\_\_\_\_

# TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS PROVENIENTES DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL EN UNA INMUNODEFICIENCIA COMBINADA SEVERA (PROBABLE SÍNDROME DE OMENN) SEGUIMIENTO DE UN CASO Y SU VENTAJA FRENTE A OTRAS FUENTES DE DONACIÓN

1. INDICE	PÁGINAS
<b>1. <u>INDICE</u></b> .....	3
<b>2. <u>INTRODUCCIÓN</u></b> .....	4
<b>3. <u>OBJETIVO</u></b> .....	4
<b>4. <u>MARCO TEÓRICO</u></b> .....	5
4.1 DEFENSAS DEL CUERPO HUMANO .....	5
4.1.1 Principales mecanismos de defensa del cuerpo humano .....	5
4.1.2 Inmunidad humoral y celular.....	6
4.1.3 Inmunodeficiencias .....	11
4.1.4 Inmunodeficiencias combinadas .....	12
4.1.5 Inmunodeficiencias combinadas severas . (IDCS.....	13
4.2 SINDROME DE OMENN.....	13
4.2.1 Casos Reportados .....	18
4.2.2 Trasplante progenitores hematopoyéticos.....	21
4.2.2.1 Etapas del trasplante de progenitores hematopoyéticos.....	23
4.2.3 Tipos de trasplante.....	37
4.2.4 Diferentes fuentes de Células hematopoyéticas .....	39
4.2.5 Banco de Sangre de Cordón Umbilical .....	46
<b>5. <u>DISEÑO EXPERIMENTAL</u></b> .....	57
5.1 Presentación del caso clínico.....	57
5.2 Opciones de Trasplante.....	59
<b>6. <u>MATERIAL Y METODOS</u></b> .....	62
6.1 Datos de la unidad .....	62
6.2 Trasplante progenitores hematopoyéticos provenientes de sangre de Cordón umbilical.....	63
<b>7. <u>RESULTADOS</u></b> .....	63
7.1 Evolución del trasplante.....	64
7.2 Injerto de trasplante .....	65
7.3 Vida Post Trasplante.....	69
<b>8. <u>ANÁLISIS DE RESULTADOS</u></b> .....	70
<b>9. <u>CONCLUSIONES</u></b> .....	73
<b>10. <u>REFERENCIAS</u></b> .....	75

## 2. INTRODUCCIÓN

Las inmunodeficiencias combinadas severas son enfermedades poco comunes, usualmente son hereditarias, congénitas, y/o genéticas en su origen. Una de ellas, síndrome de Omenn, es una variante hereditaria de una inmunodeficiencia combinada severa, que no es fácil de diagnosticar durante el periodo neonatal, además de ser una inmunodeficiencia con células T y B anormales es una enfermedad autosómica recesiva con manifestaciones autoreactivas y condiciones fatales.

Hasta ahora el único tratamiento que se conoce como potencialmente curativo para este tipo de padecimientos es el trasplante de progenitores hematopoyéticos. Las células progenitoras hematopoyéticas procedentes de sangre de cordón umbilical, constituye una alternativa válida para aquellos pacientes, principalmente niños, que necesitan regenerar su médula ósea y que carecen de un donador compatible.

En el presente trabajo se reporta el caso de un paciente pediátrico de origen mexicano el cual presentó desde el nacimiento eritrodermia generalizada, con descamación hasta las 48 horas de vida, neumonía neonatal y malformaciones en el cierre de la columna vertebral (mielomeningocele); el cual fue cerrado por cirugía y se colocó una válvula ventrículo-peritoneal; sin embargo se le realizó un diagnóstico de inmunodeficiencia combinada severa, probable síndrome de Omenn y es remitido al Instituto Nacional de Pediatría (INP) para su tratamiento, decidiendo; debido a circunstancias del paciente; realizar un trasplante de progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón umbilical.

## 3. OBJETIVO

Sabiendo que el trasplante de progenitores hematopoyéticos es la única opción de tratamiento para algunos padecimientos hematológicos y que las fuentes de células progenitoras hematopoyéticas son buscadas por lo general en donador relacionado, después en donador no relacionado y en tercera instancia en unidad de sangre de cordón umbilical, el objetivo de este trabajo es mostrar que esta última opción ofrece una alternativa viable y disponible en forma inmediata, como fuente de células progenitoras hematopoyéticas para llevar a cabo estos tratamientos en México, mostrando las ventajas que presenta frente a otras fuentes de progenitores hematopoyéticos, además de ser una alternativa en casos de emergencia por su inmediata disponibilidad.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 DEFENSAS DEL CUERPO HUMANO

#### 4.1.1 Principales mecanismos de defensa del ser humano.

En el cuerpo humano existen mecanismos de defensas que nos protegen en contra de las infecciones bacterianas, virales, fúngicas, parasitarias y a agentes que potencialmente pueden causar enfermedad. Dichas defensas pueden ser físicas o formar parte del Sistema Inmunológico, el cual está formado por un conjunto de mecanismos que protegen al organismo. Esta tarea es extremadamente compleja y las “amenazas” deben ser detectadas con absoluta especificidad, distinguiéndolas de células y tejidos normales del organismo.<sup>1</sup>

Los mecanismos de defensa del cuerpo humano se pueden dividir en dos categorías:

- **Constitutivas:** las cuales representan las primeras líneas de resistencia y actúan en contra de cualquier microorganismo independientemente de su origen, familia, género, especie o tipo. Estos son:
  - La integridad de la piel.
  - La integridad de las membranas mucosas.
  - La fagocitosis.
  - La acción del complemento.
  - Los agentes quelantes de hierro.
  - Las proteínas séricas de alta afinidad por la manosa.
  - La fiebre
  - La inflamación
  
- **Específicas:** que agrupan aquellos elementos dirigidos exclusivamente contra una especie o cepa en particular y cuya activación se pone de manifiesto en los 5 a 10 días que suceden al ingreso del agente invasor en el hospedero.<sup>2</sup>

Los mecanismos más sofisticados se desarrollaron más recientemente de forma conjunta con la aparición de los vertebrados. El sistema inmunológico de los vertebrados – como el de los seres humanos – comprende varios tipos de proteínas, células, órganos y tejidos que actúan en una red elaborada y dinámica.

Esta respuesta inmune más compleja incluye la capacidad de adaptarse para así, reconocer patógenos concretos en forma más eficiente. El proceso de adaptación crea memorias inmunológicas y permite brindar una protección más efectiva durante futuros encuentros con estos patógenos, este proceso de inmunidad adquirida se basa en la creación de anticuerpos.<sup>1</sup>

#### **4.1.2 Inmunidad humoral y celular**

Hematopoyésis (hemato=sangre; poyesis=formación) es el término utilizado para describir la formación y desarrollo de la células sanguíneas. La hematopoyésis comienza en el saco vitelino del embrión humano desde el decimo noveno día después de la fertilización.

Cerca del tercer mes de vida embrionaria, el hígado fetal se convierte en el principal sitio de producción de células sanguíneas, mientras que el saco vitelino termina su participación en el proceso hematopoyético. En este momento la hematopoyesis se inicia también en menor grado en bazo, riñón, timo y ganglios linfáticos, aunque este último se mantiene como un sitio importante de linfopoyésis a través de la vida, la producción de células sanguíneas en hígado, bazo, riñón y timo disminuye y termina cuando la medula ósea interviene activamente en el proceso. Así la medula ósea se convierte en el principal sitio de hematopoyésis desde el tercer trimestre de la gestación y se mantiene como principal fuente de producción sanguínea después del nacimiento y durante la vida adulta.<sup>3</sup>

Las células sanguíneas maduras tienen un tiempo de vida limitado y, con excepción de los linfocitos, son incapaces de reproducirse a sí mismas. El reemplazo de las células hematopoyéticas periféricas muertas, es la función de las células más primitivas de la medula ósea, llamadas células progenitoras pluripotenciales, las cuales se caracterizan por su capacidad tanto para diferenciarse entre las distintas células sanguíneas con funciones especializadas como para regenerarse a sí misma y mantener el compartimento de células progenitoras.

Las células hematopoyéticas pueden dividirse en tres compartimentos celulares dependiendo de su madurez: 1) células primitivas multipotenciales capaces de autorenovación y diferenciación en todos los tipos de células sanguíneas. 2) células progenitoras asignadas destinadas a proliferar y desarrollarse en cualquiera de los tipos celulares. 3) células maduras con funciones especializadas que han perdido la capacidad para proliferar.

El volumen de células progenitoras comprende aproximadamente 1 a 2 por  $10^6$  células. A pesar de su número reducido, estas células son responsables de la reproducción de más de 10 células por día de manera continua. Solo un pequeño número de células progenitoras se está dividiendo en un momento dado (menos de 5%). La mayor parte está en la fase de reposo o estado  $G_0$  del ciclo celular.<sup>3</sup>

Para mantener el volumen de las células progenitoras y al mismo tiempo seguir produciendo células para reemplazar las células sanguíneas diferenciadas ya envejecidas, las células progenitoras deben de ser capaces de mantener un equilibrio respecto a la autoreproducción y diferenciación. Esto se logra cuando una célula puede dividirse en dos células hijas, una de las cuales se va a diferenciar, mientras otra permanece en el compartimiento de células progenitoras; y de manera alterna por cada célula progenitora que produce dos células hijas, de las cuales ambas se diferencian, otra célula progenitora produce dos células hijas que permanecerán en el compartimiento de células progenitoras. Las células hijas de las células progenitoras retienen la habilidad para generar células de todos los tipos hematopoyéticos, característica importante para regenerar médula ósea en los trasplantes, sin embargo en divisiones sucesivas la progenie de las células hija se restringe progresivamente a diferenciar cada vez menos hijas, hasta que al cabo de un tiempo se limita a un solo tipo de células (un solo linaje) denominadas progenitoras comprometidas y dan origen a células precursoras como eritroblastos y mieloblastos.

La investigación con marcadores cromosómicos indica que el linfocito y otras células hematopoyéticas tienen en común una célula progenitora primitiva que da origen a ambos progenitores: mieloide y linfoide.

La célula progenitora pluripotencial da origen a las células progenitoras multipotenciales, las cuales se diferencian en células progenitoras comprometidas, dichas células se desarrollan hasta células maduras no proliferantes.

La célula progenitora multipotencial comprometida a diferenciarse en granulocitos, monocitos, plaquetas y eritrocitos es denominada célula progenitora mieloide que bajo la influencia de factores de crecimiento específicos, esta puede diferenciarse para formar uno de los tipos celulares hematopoyéticos específicos, así los granulocitos y monocitos se derivan de una célula progenitora bipotencial común, la unidad formadora de colonias de granulocitos y monocitos que se deriva de célula progenitora mieloide.<sup>3</sup>

La línea celular linfoide se origina en la célula progenitora pluripotencial que se encuentra en la médula ósea y de la cual se derivan dos células progenitoras: la célula progenitora linfoide y la célula progenitora hematopoyética. La primera madura y se

deferencia a dos tipos de linfocitos idénticos pero inmunitariamente y funcionalmente diversos: linfocitos T y linfocitos B, los cuales son señalados como directores de las actividades de todas las demás células de respuesta inmunitaria.

La linfopoyésis suele dividirse en dos fases distintas: linfopoyésis independiente de antígeno y linfopoyésis dependiente de antígeno. La primera se realiza dentro del tejido linfoide primario (médula ósea, timo, hígado fetal, saco vitelino), este tipo de linfopoyésis comienza con la célula progenitora linfoide y produce como resultado la formación de linfocitos T y B inmunocompetentes (llamados vírgenes porque aun no han relacionado con antígeno).

La segunda se produce en el tejido linfoide secundario (médula ósea del adulto, bazo, ganglios linfáticos, tejido linfoide relacionado con el intestino) y comienza con estimulación antigénica de los linfocitos T y B inmunocompetentes. Este tipo de linfopoyésis da lugar a la formación de linfocitos T y B efectores que median la respuesta inmunitaria a través de la producción de linfocinas por los linfocitos T y de anticuerpos por los linfocitos B.

Los linfocitos T, B y el macrófago interactúan en una serie de sucesos que permiten que el cuerpo elimine antígenos extraños. Esta serie de acontecimientos se conoce en forma colectiva como Respuesta Inmunitaria. Los linfocitos T son responsables de la Respuesta Inmunitaria conocida como inmunidad mediada por células, la cual requiere interacción con macrófagos histocompatibles, linfocitos T y un antígeno. Es independiente de la producción de anticuerpos por los linfocitos B. Cuando menos hay tres subgrupos funcionales importantes de linfocitos T implicados en la Respuesta Inmunitaria: linfocitos T Cooperadores, linfocitos T Supresores y linfocitos T Citotóxicos. Cuando estas células son activadas durante Respuesta Inmunitaria proliferan y producen linfocinas. Las linfocinas son citocinas liberadoras principalmente por los linfocitos T que influyen sobre la función de otros linfocitos, macrófagos y otras células del cuerpo. Los linfocitos B también logran secretar linfocinas. Bajo la influencia de las linfocinas, los macrófagos llegan a producir citocinas derivadas de monocito, así las linfocinas actúan en forma sinérgica. <sup>4</sup>

Los linfocitos B son responsables de parte de la Respuesta Inmunitaria conocida como inmunidad humoral. Para lograr la inmunidad humoral, el linfocito B periférico debe ser activado y diferenciarse a célula plasmática. La capacidad del cuerpo para formar una Respuesta Inmunitaria contra un antígeno extraño en particular es controlada por genes de Respuesta Inmunitaria situados en el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en el cromosoma 6. Estos genes codifican para los

antígenos histocompatibles que se encuentran en la superficie de prácticamente todas las células nucleadas. El término usado para describir el grupo del gen MHC en el ser humano es la región del antígeno leucocitario humano (HLA).<sup>3</sup>

Los genes HLA están situados en regiones específicas del complejo conocidas como HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D, y HLA-DR. Las regiones se clasifican de acuerdo con la estructura y su función específica que desempeñan en la Respuesta Inmunitaria. Los genes de HLA-A, HLA-B y HLA-C codifican para las proteínas de reconocimiento de superficie de la célula de clase I. Estas proteínas son necesarias para que los linfocitos T citotóxicos distingan a los antígenos propios de los no propios. Los genes de HLA-D codifican para antígenos de clase II en el linfocito B, monocito, macrófago y linfocitos T activados. Los antígenos de clase II determinan la capacidad de las células inmunitarias para cooperar e interactuar en la respuesta inmunitaria. La región D está dispuesta cuando menos en tres subregiones: DP, DQ, y DR. Los genes de clase III codifican para componentes del sistema del complemento.<sup>5</sup>

Por lo general la respuesta inmunitaria empieza con el reconocimiento del antígeno por macrófagos seguido por fagocitosis y degradación. En este proceso se preservan ciertos determinantes inmunitarios del antígeno y se presentan a linfocitos T cooperadores en el contexto de moléculas del MHC II. Los linfocitos T cooperadores fijan el antígeno en la superficie del macrófago mediante el receptor TCR. El macrófago activado elabora una monocina, la IL-1, la cual estimula la secuencia de acontecimientos bioquímicos y morfológicos en el linfocito T cooperador, que da como resultado la proliferación y diferenciación de linfocitos T sensibilizados de manera específica. El linfocito T cooperador activado secreta IL-2, así como las otras linfoquinas, las cuales afectan otros macrófagos y linfocitos.

Los linfocitos T cooperadores activados desarrollan receptores de IL-2 en su superficie, a través de los cuales la célula enlaza la IL-2 estimulando a la célula a proliferar.

Los linfocitos T requieren contacto físico entre los linfocitos T y los linfocitos B, a través de los receptores TCR del linfocito T cooperador y el complejo antígeno-molécula MHC II en el linfocito B para estimular a este último.

Los linfocitos T supresores también contienen receptores para IL-2; el enlace de esta linfoquina estimula la actividad de las células. Los linfocitos T supresores, identificados por el antígeno CD8, actúan al suprimir la respuesta inmunitaria. Es posible que eliminen a otros linfocitos T o lograr que los linfocitos B detengan su producción de anticuerpos.

Por lo general, hay pocos linfocitos T citotóxicos (o T efectoras) en un individuo sano. Los linfocitos T citotóxicos actúan en citólisis restringida de MHC I específica para un antígeno. El enlace del antígeno y las moléculas de clase I de macrófago, además de enlazar la IL-2 a receptores específicos en el linfocito T citotóxico, estimula la célula a proliferar. El linfocito T citotóxico reconoce y destruye células autólogas modificadas por los virus. Se piensa que también esta célula es la responsable de la respuesta de injerto contra huésped que se presenta en individuos con trasplantes alogénicos. En la enfermedad de injerto contra huésped (EICH), el receptor inmunosuprimido que recibe el injerto es capaz de formar una respuesta inmunitaria contra el tejido injertado; sin embargo, este último contiene linfocitos T citotóxicos que tienen la capacidad de montar un ataque sobre los antígenos del huésped.

Además de la producción de los linfocitos T activados que participan directamente en la respuesta inmune, cada tipo de linfocito T activado suele producir células de memoria. Dichas células retienen la memoria de antígeno estimulante; cuando se encuentra de nuevo el mismo antígeno provocan una respuesta inmunitaria más rápida y eficaz.

La actividad funcional del linfocito B incluye la síntesis y secreción de anticuerpos. Asimismo, la inmunoglobulina de superficie del linfocito B actúa como receptor del antígeno transformado, el cual se enlaza tanto al macrófago como al linfocito T Cooperador. Además del enlace del antígeno presentado por el macrófago, las moléculas del MHC II del linfocito B se enlazan a los receptores de MHC II del linfocito T Cooperador. Este complejo de tres células (linfocito T Cooperador, macrófagos y linfocitos B) inicia la formación del inmunoblasto del linfocito B. El linfoblasto se transforma en célula plasmática secretora de anticuerpos. Además de formar células plasmáticas, los linfocitos B activados forman linfocitos B de memoria. Así, cuando un agente patógeno penetra al organismo del hospedero se expone a entrar en contacto con macrófagos o con una parte de linfocitos B, los cuales son capaces de sintetizar anticuerpos dirigidos contra alguna de sus determinantes antigénicas. De ésta forma el agente patógeno es inactivado. Los linfocitos T Cooperadores pueden mediar la activación de los linfocitos B a través de la secreción de linfocinas que no requieren contacto físico entre las dos células. Los linfocitos T cooperadores activados secretan factores de crecimiento de células B y factores de diferenciación que estimulan al linfocito B a proliferar.

La activación de la respuesta inmune, el éxito en la eliminación del antígeno y la supresión subsiguiente de la respuesta inmune requiere de la interacción de macrófagos, linfocitos T y linfocitos B histocompatibles. Los desajustes en este

sistema complejo logran perturbar la respuesta inmunitaria normal. La infección recurrente o la incapacidad para afrontar microorganismos reflejan inmunodeficiencia. También se llegan a producir alteraciones que impiden que los linfocitos diferencien autoantígenos de antígenos extraños. Las consecuencias clínicas de dichas alteraciones son los trastornos auto inmunitarios.<sup>3</sup>

#### **4.1.3 Inmunodeficiencias**

Cada uno de los mecanismos de la respuesta inmune puede actuar de forma separada o en conjunto. La integridad de estos sistemas es importante porque nos protege de los microorganismos y de sus productos tóxicos.

Los desordenes en el sistema inmunológico pueden causar enfermedades. Los defectos un uno o más de sus componentes lleva a una serie de efectos en el sistema inmune que colectivamente se llaman inmunodeficiencias. Las inmunodeficiencias ocurren cuando el sistema inmunológico es menos activo de lo normal, dando lugar a infecciones que pueden poner en peligro la vida. En general los signos y síntomas de las inmunodeficiencias se relacionan al grado de deficiencia del sistema que se encuentra afectado.

En los últimos años se ha avanzado enormemente en el reconocimiento de los defectos moleculares y genéticos responsables de muchas de ellas, esto ha permitido establecer diagnósticos más precisos, además apreciar el espectro de alteraciones clínicas generadas por defectos en un mismo gen y así realizar y proyectar nuevas y mejores estrategias terapéuticas.

La mayoría de estas deficiencias (90%) se presentan en edades pediátricas, especialmente antes de los primeros 5 años de vida y la incidencia global es de 1 en 10,000 nacidos vivos, teniendo una distribución por sexo con predominio masculino (60% a 80%).<sup>7</sup>

#### **CLASIFICACION**

Las inmunodeficiencias pueden ser clasificadas como:

- Inmunodeficiencias Primarias o Congénitas (IDP):

Donde defectos genéticos llevan a una deficiencia o mal funcionamiento de algún componente del Sistema inmune el cual afecta su funcionamiento, disminuyendo las defensas, aumentando susceptibilidad a agentes externos. Esto es manifestado

tempranamente en la infancia y en la niñez, sin embargo hay casos en los que se detecta en adolescencia o en edad adulta.

Se estima que en los Estados Unidos uno de cada 500 habitantes nace con algún defecto en algún componente del Sistema Inmune, aunque solo una pequeña porción se afecta severamente.

La Organización Mundial de la Salud clasifica a este tipo de inmunodeficiencias de acuerdo a los avances logrados y las principales categorías son:

- a) Inmunodeficiencias combinadas.
  - b) Deficiencias predominantes de anticuerpos.
  - c) Inmunodeficiencias asociadas a otros defectos mayores.
  - d) Defectos congénitos del número y/o funcionamiento del fagocito.
  - e) Deficiencia del complemento
  - f) Deficiencia Predominante del linfocito T
  - g) Inmunodeficiencia secundaria o asociada a otras enfermedades.
- ID Secundarias o Adquiridas

Se desarrollan como consecuencia de factores como la malnutrición, tumores, enfermedades autoinmunes o infecciones del SI como VIH. <sup>8</sup>

#### **4.1.4 Inmunodeficiencias combinadas.**

Este grupo representa entidades caracterizadas por anomalías tanto en la inmunidad mediada por células (Linfocitos T) como en la mediada por anticuerpos (Linfocitos B). Las manifestaciones clínicas y sus pronósticos dependen de la magnitud del compromiso inmunológico. Se han clasificado según las alteraciones que las generan y las características clínicas-inmunológicas.

#### **4.1.5 Inmunodeficiencias combinadas severas. (IDCS).**

En ésta categoría se incluyen aquellas entidades en las cuales la función inmune adaptativa se encuentra totalmente ausente, representan las formas más graves de ID ya que el 100% de los casos tienen un curso fatal, de no mediar una reconstitución inmune por medio de un trasplante de células hematopoyéticas y su frecuencia ha sido

estimada en 1 de cada 75,000 a 100,000 nacimientos, de los cuales se estima que un 50% son deficiencia de anticuerpos, 20% son Inmunodeficiencias combinadas, un 10% por defectos de la inmunidad celular, 18% por defectos de la fagocitosis y 2% por defectos en el complemento.

Las manifestaciones clínicas se presentan en los primeros meses de vida (por lo general entre 3 a 6 meses). Las manifestaciones afectan principalmente al aparato respiratorio y al tubo digestivo.

Se puede observar candidiasis oral recurrente, o crónica, diarrea persistente, neumonitis y detención del crecimiento. Manifestaciones no infecciosas como eritrodermia generalizada, diarrea, eosinofilia y hepatitis son generadas por presencia de células linfoides alogénicas, ya sean de origen materno, trasplacentaria o transfusional.

El tejido linfoides se encuentra profundamente hipoplásico. Los ganglios linfáticos no son palpables y las amígdalas no son visibles.

Las Inmunodeficiencias se pueden clasificar en función del fenotipo linfocitario afectado, es decir, linfocitopenia con deficiencia de linfocitos T maduros (T-) o bien con una deficiencia en el funcionamiento en la inmunidad mediada por anticuerpos (B-).<sup>8</sup>

## **4.2 SÍNDROME DE OMENN**

Inmunodeficiencia combinada severa T (-) B (-)

El Síndrome de Omenn es una variable hereditaria de una inmunodeficiencia combinada severa que es difícil de diagnosticar durante el periodo neonatal, este síndrome es una inmunodeficiencia con células T-B anormales (T-, B-), es una enfermedad autosómica recesiva con manifestaciones autoreactivas y condiciones fatales.

Gilbert Omenn en 1965 fue el primero en descubrirla en 12 individuos de una familia americana irlandesa innata, afectados con reticuloendoteliosis y eosinofilia. Desde entonces por lo menos 70 casos han sido publicados.<sup>12</sup>

Las inmunodeficiencias con este fenotipo linfocitario ya han sido identificadas y caracterizadas a nivel molecular, encontrándose una mutación en los genes activadores de recombinación Rag1 y Rag2 (o recombinase-activating gene 1 o 2) que hasta la fecha han sido descrita en la mayoría de los pacientes con el Síndrome de Omenn y son también responsables de este cuadro de inmunodeficiencia muy

particular, en donde los pacientes manifiestan tempranamente, luego del nacimiento una gran eritrodermia exudativa, diarrea, hepatoesplendomegalia, linfadenopatía, hepatitis, eosinofilia y elevación de las IgE. Los linfocitos oligoclonales son fenotipos de activación. Los linfocitos B están ausentes y son encontradas frecuentemente infecciones recurrentes. La deficiencia de RAG corresponde al 20% de estas inmunodeficiencias y su mutación se hereda de forma autosómica recesiva.<sup>6</sup>

Los genes llamados activadores de recombinación Rag1 y Rag2 codifican enzimas que llevan a cabo un importante papel en la reordenación y recombinación de los genes de la inmunoglobulina y el receptor de linfocitos T durante el proceso de recombinación V(D)J. Las enzimas producidas por dichos genes son conocidas como RAG-1 y RAG-2 respectivamente, cuya expresión está restringida a los linfocitos durante sus estadios de desarrollo. RAG-1 y RAG-2 son esenciales para la generación de linfocitos T y B maduros; dos tipos celulares que son componentes cruciales del sistema inmunitario adaptativo.<sup>11</sup>

Las proteínas RAG son indispensables para la recombinación V(D)J. La recombinación V(D)J es un mecanismo de recombinación genética que se da en vertebrados por el cual se selecciona y ensambla al azar segmentos de genes que codifican proteínas específicas con papeles importantes en el sistema inmunitario. Esta recombinación específica de localización genera un repertorio diverso de receptores de linfocitos T (TCR) y moléculas de inmunoglobulina (Ig) que son necesarios para el reconocimiento de diversos antígenos bacterianos, víricos y de parásitos, así como de células disfuncionales, como son las tumorales.

Las moléculas de anticuerpo humanas (y los receptores de linfocitos B) comprenden cadenas ligeras y pesadas que contienen regiones tanto *constantes* (C) como *variables* (V) que se codifican mediante tres tipos de genes.

Gen de la cadena pesada – localizado en el cromosoma 14.

Gen kappa ( $\kappa$ ) de la cadena ligera – localizado en el cromosoma 2.

Gen lambda ( $\lambda$ ) de la cadena ligera – localizado en el cromosoma 22.

Múltiples genes de las regiones variables están codificados en el genoma humano de forma que contienen tres tipos distintos de segmentos. Por ejemplo, la región de inmunoglobulina de la cadena pesada contiene 65 genes variables (V), además de 27 genes "*Diversity*" —diversidad— (D) y seis genes "*functional joining*" —unión funcional— (J). Las cadenas ligeras también poseen numerosos genes V y J, pero no D. Por este mecanismo de reorganización del ADN de estos genes regionales es posible generar un repertorio de anticuerpos de más de  $10^7$  posibles combinaciones.

( $65 \times 27 \times 6 = 10530$ , que se ha de multiplicar por tres órdenes de magnitud si se tiene en cuenta las combinaciones de las cadenas ligeras).

La mayoría de los receptores de linfocitos T están compuestos por cadenas alfa y beta. Sus genes son similares a los de las inmunoglobulinas en el sentido de que contienen múltiples genes V, D y J en sus cadenas beta (genes V y J en sus cadenas alfa) que se reorganizan durante el desarrollo del linfocito para dotar a la célula con un único receptor de antígeno.

A un nivel genético, los exones que codifican la inmunoglobulina o dominios variables de receptor de células T se recombinan de diferentes elementos subgenéticos llamados elementos V(D)J (variable (V), diversidad (D) y unión (J)).

El reordenamiento del DNA es guiado por las secuencias señal de recombinación (RSSs) que flanquean los segmentos individuales de los genes V, (D) o J, y son reconocidas por un grupo de enzimas conocidas colectivamente como VDJ recombinasa. Estas RSSs están compuestas por siete nucleótidos conservados (un heptámero) que reside cerca del gen que codifica la secuencia seguida por un espaciador (que contiene entre 12 y 23 nucleótidos no conservados) seguidos por un nonámero conservado (9 pares de bases). Las RSSs están presentes en el lado 3' (secuencia abajo) de una región V y en el lado 5' (secuencia arriba) de la región J. Estos son los lados que están implicados en el empalme. Solo se recombinan eficientemente un par de RSSs espaciadoras que no sean idénticas (una con un espaciador de 12 nucleótidos se recombinará con otra con un espaciador de 23 nucleótidos). Esto se conoce como la regla del 12/23 de la recombinación.<sup>10</sup>

La recombinasa VDJ es una colección de enzimas, algunas de las cuales son específicas de linfocitos, mientras que otras se expresan en muchos tipos celulares. Los pasos iniciales de la recombinación VDJ se lleva a cabo por enzimas críticas específicas de linfocitos, llamadas RAG1 y RAG2. Estas enzimas se asocian unas con otras para reconocer las secuencias RSSs e inducir una escisión del ADN en ellas. Las proteínas RAG reconocen específicamente la RSSs y como endonucleasa inicialmente introduce un corte en el DNA de doble cadena entre los elementos de codificación de V(D)J. Después de la generación de este corte inicial, resultan libres 3'-OH del ataque del fosfodiéster de la cadena opuesta, que conduce a la formación de anillos covalentes cerrando la codificación final de los extremos del gen V(D)J formando un gancho terminal.

Después, el gancho terminal de la cadena correspondiente se reabre y se une por los factores expresados por doquier de las terminales no homologas unidas hacia la reparación del DNA.

Otras enzimas de recombinasa VDJ se expresan en muchos tipos celulares y están implicadas en la reparación del ADN que sigue a la actividad de RAG1 y RAG2. Una de estas enzimas se llama complejo proteín quinasa activada por ADN (DNA-PK) que repara el ADN de doble cadena. Este complejo se une a cada uno de los extremos del ADN escindido, y recluta varias proteínas más, incluida la nucleasa ARTEMIS, XRCC4 (X-ray repair cross-complementing factor 4), ADN ligasa IV, Cernunnos (también llamado XLF o factor semejante a XRCC4), y cualquiera de las varias ADN polimerasas. Los complejos DNA-PK de cada extremo del ADN se fosforilan mutuamente, lo que resulta en una activación de ARTEMIS.

Recientemente se ha demostrado que la proteína ARTEMIS es responsable de la abertura de estos ganchos terminales. ARTEMIS asociado y fosforilado por la subunidad catalítica de la proteína dependiente del DNA posee una actividad nucleolítica alta y para abrir los ganchos terminales. ARTEMIS entonces rompe el gancho terminal que se formó por las proteínas RAG. XRCC4 y Cernunnos actúan concertadamente con DNA-PK para alinear los dos extremos de ADN entre si, y también contribuyen a reclutar una transferasa terminal, que añade nucleótidos al azar a sus extremos.

Las ADN polimerasas insertan nucleótidos adicionales según se necesiten para crear dos extremos compatibles para la unión. Finalmente la ligasa IV une las cadenas, concluyendo el proceso.

Dada la variabilidad de la posición exacta de la escisión del gancho terminal por ARTEMIS, así como la adición al azar de nucleótidos por la transferasa terminal, la secuencia final de ADN y con ello el anticuerpo resultante es altamente variable, incluso si entre dos anticuerpos se diera la casualidad de que se unieran al azar los mismos segmentos V, D y J. Esta gran diversidad permite a la recombinación VDJ generar anticuerpos incluso para microbios que ni un organismo ni sus antepasados se hayan encontrado nunca.

Sin la activación de la proteína ARTEMIS, esta solo muestra actividad intrínseca para una cadena simple del DNA como exonucleasa específica 5`a 3` in vitro. Por lo tanto una falta de ARTEMIS o de su actividad en los humanos lleva al fenotipo de la Inmunodeficiencias de T-B-, con un desarrollo en bloque de células B en la medula ósea.

Algunos pacientes con el Síndrome de Omenn sin mutaciones de los genes RAG han sido reportados. Se ha especulado que estos pacientes pueden tener mutaciones de ARTEMISA o cualquier otra enzima involucrada en la recombinación V(D)J o vía de reparación del DNA.<sup>9</sup>

Hasta la fecha, sin embargo, los defectos genéticos que no sean las mutaciones RAG no han sido identificados como una causa molecular de Síndrome de Omenn.

Como consecuencia de dichos defectos se interrumpe totalmente la diferenciación tanto de linfocitos T como B.

Si el síndrome de Omenn es clínicamente sospechoso, se necesitan estudios de sangre para diagnosticarlo. Este síndrome difiere de otras inmunodeficiencias severas en que estas afecciones infantiles se presentan con un normal o aumentado conteo de células T, con un restringido repertorio de receptores oligoclonales de células T (TCR); estas células T a menudo se activan y desvían hacia un fenotipo Th2, secretando predominantemente, citocinas de tipo Th2 y las células B están ausentes en gran medida; casi de manera uniforme, eosinofilia y altos niveles de inmunoglobulina E, son encontrados como el resultado más probable de la secreción de citocinas del tipo Th2. Los estudios moleculares e inmunológicos ayudan a confirmar el diagnóstico.

Los niveles séricos de otras clases de inmunoglobulinas disminuyen o no son detectados. Las funciones y número absoluto de las células NK no han sido afectadas en Síndrome de Omenn; por lo tanto la mayoría de los pacientes han sido clasificados como IDCS T- B- NK+.<sup>9</sup>

El curso clínico de este padecimiento es casi siempre fatal. El único tratamiento conocido para este tipo de inmunodeficiencias es el trasplante de médula ósea y se reporta que este tratamiento solo se reporta exitoso en la mitad de los casos. Durante el curso de este tratamiento se debe controlar las reacciones cutáneas e inmunológicas como infecciones y dentro del esquema se recomienda la sustitución de los niveles séricos de inmunoglobulinas; regularmente se administran gammaglobulinas.<sup>13</sup>

Las proteínas globulares presentes en el suero sanguíneo que migran a la región gamma (por encontrarse cargadas eléctricamente de forma positiva) en una electroforesis se denominan gammaglobulinas. En pacientes con enfermedades del sistema inmune que impiden la producción endógena de gammaglobulinas, es posible suplementarlas farmacológicamente. Las gammaglobulinas humanas se administran en caso de Agammaglobulinemia asociada a X (XLA) o en Inmunodeficiencias.

Los efectos clínicos de la gammaglobulina intravenosa exceden el simple reemplazo de anticuerpos en inmunodeficiencias; son cada vez más reconocidos sus efectos

inmunorregulatorios y antiinflamatorios, responsables de su beneficio en muy diversas patologías. La gammaglobulina intravenosa (IV) ha sido utilizada durante más de 25 años en el tratamiento de las deficiencias inmunes primarias y secundarias; sus preparados son seguros y no se asocian con efectos adversos a largo plazo. Todas las preparaciones comerciales tienen moléculas intactas de IgG con una distribución de subclases similar a la del suero humano normal. La mayoría presenta trazas de IgA que pueden sensibilizar a individuos con deficiencia de esta inmunoglobulina en tratamientos prolongados. La vida media de la Ig. IV es de 3 semanas. La porción Fc de las inmunoglobulinas permite la interacción con receptores específicos (Fc $\gamma$ ) en la superficie de células fagocíticas y linfocitos B, así como la interacción con componentes del sistema complemento.<sup>6</sup>

#### 4.2.1 Casos Reportados

En la literatura se han encontrado casos reportados de esta Inmunodeficiencia, mencionando algunos a continuación:

Se reporta en la revista de la sociedad americana de hematología (Junio 2005) el caso de un paciente afectado con una Inmunodeficiencia con un fenotipo de Síndrome de Omenn. Este paciente fue el tercer hijo varón de padres no consanguíneos saludables. El primer niño de esta familia fue presentado con una eritrodermatosis y murió a la edad de 11 meses de una neumonía atípica. El segundo hijo murió a la edad de 5 años por aspergillosis. El sufrió de trombocitopenia y una anemia hemolítica autoinmune que se considero Síndrome de Evans.

El tercer niño, el cual es el motivo del reporte, fue admitido a un hospital pediátrico a la edad de 5 meses por septicemia, falta de desarrollo linfadenopatía generalizada, hepatomegalia, esplenomegalia, y eritrodermatosis. Las lesiones en la piel consideradas como largas escaras y pápulas eritematosas. Además el exhibía alopecia en el cuero cabelludo, cejas y pestañas.

El cultivo de sangre revelo la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* fue aislada de las heces. El sitio de vacunación de Bacille-Calmette-Guerin (BCG) fue observado con ulceración y con la participación de los nódulos linfáticos. El nódulo linfático de la axila derecha fue tomado para drenar el sitio de la vacunación. Se notaba eosinofilia, una marcada proliferación de células T y una completa ausencia de células B.

Después de la primera valoración inmunológica que fue inicializada a la edad de 5 meses el conteo de linfocitos fue elevado, y el más importante descubrimiento fue la completa ausencia de células B en la sangre periférica al igual que en la biopsia de nódulo linfático y presentó una proporción inversa de CD4/CD8. Un análisis funcional del sistema inmune reveló que las funciones de las células T fueron muy bajas pero estaban presentes. Los niveles de inmunoglobulina fueron decreciendo severamente y en contraste los niveles de IgE estaban elevados al momento de la primera valoración. El tratamiento inmunosupresor suministrado, llevó a una resolución casi completa de la dermatitis, alopecia, hepatoesplenomegalia y la linfadenopatía. Se observó una ganancia significativa de peso.

A la edad de 10 meses se le realizó un Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos provenientes de la sangre periférica movilizada después de una depleción de las células T y un acondicionamiento mieloablativo. El donador fue la madre por ser HLA-haploidéntico. Este tratamiento resultó en un quimerismo completo y funciones inmunológicas normales.<sup>9</sup>

Otro caso reportado por el Hospital infantil de Ohio de la Universidad de Duke en la revista *International Pediatrics* (2004) es el de una niña de 28 días de edad, ella fue producto de un embarazo normal con un parto a las 33 semanas de gestación, con un APGAR de 7/9 con un peso al nacer de 2.126 Kg. Producto de padres no consanguíneos, el curso perinatal se complicó por apnea y bradicardia. Al nacer presentó una eritematosis difusa tratada tópicamente, sin presencia de infecciones. En su primer diagnóstico tenía una severa eritematosis la cual se creía desarrollada por una sepsis causada por *Staphylococcus*. La paciente fue presentada con síntomas compatibles al Síndrome de Omenn, presentaba rash, adenopatía, diarrea, baja de peso, hipereosinofilia, células T altas y ausencia de células B, con niveles de altos de inmunoglobulinas y dos diferentes mutaciones del gen RAG-1. Ella fue diagnosticada con Síndrome de Omenn hasta después de su muerte y no tenía otro registro familiar de la enfermedad.<sup>12</sup>

Un caso reportado en *British Journal of Haematology* (2004) es el de una niña de 6 meses de edad afectada con Síndrome de Omenn, su historial es caracterizado por infecciones respiratorias recurrentes incluido un caso de virus sincicial respiratorio, requiriendo ventilación mecánica.

Otro caso, fue el reportado por el Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, a cargo del Dr. Juan José Ríos Martín en el Congreso de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (2003). Historia clínica: Niña de dos meses y medio que ingresa en nuestro hospital por un cuadro eritrodérmico-descamativo difuso con hepatomegalia y adenomegalias inguinales y axilares. En la analítica destaca una linfocitosis con ausencia de células B, eosinofilia periférica, hipogammaglobulinemia con elevación progresiva de IgE y elevación de transaminasas y LDH. Entre los antecedentes se cita un hermano fallecido un año antes a los 41 días de edad con un cuadro clínico similar. El paciente falleció a los pocos días por cuadro neumónico.

Los estudios histológicos de las biopsias cutáneas de ambos hermanos presentaban hallazgos superponibles y consistían en exocitosis linfocitaria (localizada preferentemente en la capa basal) e infiltrado mononuclear perivascular en la dermis superficial. En el caso del hermano fallecido previamente se observaron, además, ocasionales eosinófilos en disposición perivascular. El estudio inmunohistoquímico puso de manifiesto que la mayoría de las células linfoides (tanto dérmicas como epidérmicas) correspondían a linfocitos T (CD3+) con casi ausencia de células linfoides B (CD20 +). Se estudio el ganglio linfático el cual presentaba un aspecto pálido por la depleción linfoide, la corteza aparecía muy mal definida, con ausencia de folículos linfoides primarios y secundarios. Las células tenían un citoplasma amplio, pálido, sin producto de fagocitosis, y límites mal definidos. El núcleo era irregular, con frecuencia hendido, y mostraba un nucléolo pequeño o ausente. Las células linfoides, que se disponían, correspondían casi en su totalidad a linfocitos T. La morfología de estas células era muy variable, desde células pequeñas con mínimo citoplasma y núcleo algo irregular y sin nucleolo, a células grandes de citoplasma amplio y núcleo vesicular con nucleolo prominente. Muchas de las células linfoides, y más en particular las de mayor tamaño, eran CD30+. Las células CD20+ fueron muy escasas, y se disponían aisladas o en pequeños grupos, pero no formaban folículos linfoides. No se observaron células plasmáticas. Es de destacar la presencia de numerosos eosinófilos.

El diagnóstico de Síndrome de Omenn fuertemente sugerido por el cuadro clínico-patológico fue confirmado con posterioridad por el estudio molecular que puso de manifiesto la correspondiente mutación de los genes RAG. El paciente entró en programa de trasplante de médula ósea aunque desafortunadamente éste no pudo realizarse al fallecer por una neumonía.<sup>13</sup>

#### 4.2.2 Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas.

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se ha venido utilizando en las últimas tres décadas para reconstruir la hematopoyesis. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas consiste en la infusión de estas células obtenidas de la médula ósea, la sangre periférica, o el cordón umbilical, a un paciente que ha sido previamente acondicionado para recibir el injerto y constituye una terapéutica útil, en ocasiones única, para una gran variedad de enfermedades hematológicas y no hematológicas, como hemopatías malignas, anemia aplásica, inmunodeficiencias y gran número de tumores sólidos.

En la actualidad se trasplantan más de 30,000 pacientes al año en todo el mundo. La selección de la fuente y el tipo de trasplante están determinados por diferentes factores.

Tras las primeras experiencias con el trasplante de médula ósea realizado por *E. Donnall Thomas* en la década de los 50, comenzó su expansión mundial en la década de los 70, para experimentar un espectacular desarrollo en los años 80 y 90. En el año 2,000 se realizaron cerca de 30 000 trasplantes en el mundo, de ellos el 70 % fueron autólogos y el 30 % alogénicos. La movilización de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica fue la fuente en el 90 % de los trasplantes autólogos y en el 30 % de los alogénicos.

En la actualidad, el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se ha expandido a un amplio grupo de modalidades terapéuticas, al ampliar las fuentes de obtención de células progenitoras hematopoyéticas. La fuente clásica de los progenitores hematopoyéticos para el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es la médula ósea, pero no es la única, y también se emplean para este fin progenitores hematopoyéticos de la sangre periférica, o la sangre del cordón umbilical. De ahí que el término trasplante de células progenitoras hematopoyéticas sea preferible al de trasplante de médula ósea.<sup>24</sup>

En el momento actual, se han ampliado los objetivos del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y se utiliza además, como una forma de inmunoterapia adoptiva. La morbilidad y mortalidad de este procedimiento ha mejorado en los últimos años gracias a un mejor conocimiento del sistema de histocompatibilidad, al desarrollo de la terapia anti-infecciosa, al uso de ambientes con escasa contaminación microbiana, al soporte hemoterapéutico y a la administración de inmunosupresores potentes.

La introducción de este proceder en la práctica clínica no ha sido una tarea simple,

pues a pesar de que la técnica para la obtención y administración de la médula ósea es un procedimiento relativamente sencillo, los problemas relacionados con el acondicionamiento del receptor, los estudios de histocompatibilidad, las alteraciones inmunes que aparecen en el período postrasplante; la prevención y el tratamiento de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH); y de las infecciones que pueden ocurrir después del trasplante, así como las medidas de aislamiento del enfermo, hacen del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas uno de los más complejos dentro del campo de la trasplantología moderna.

Los intentos iniciales de aplicar este método a pacientes con enfermedades hematológicas graves fueron un fracaso, ya que se desconocía la importancia de la similitud de los antígenos de histocompatibilidad entre el donante y el receptor, y la necesidad de tratamiento inmunosupresor intenso.

En los años 50 se realizaron casi 200 trasplantes alogénicos de médula ósea en humanos, sin éxito a largo plazo. Sin embargo, durante este tiempo, se obtuvieron resultados satisfactorios con el trasplante de gemelos idénticos, que sirvieron de base para el desarrollo de este proceder.

En 1965, *Santos y Owens* comunicaron que la Ciclofosfamida era un potente inmunosupresor. Como este medicamento era conocido por su efecto antileucémico, el grupo de Seattle administró 60 mg/kg durante 2 días antes de administrar la irradiación corporal total (ICT), y con este régimen se obtuvieron los primeros receptores con sobrevida a largo plazo.

El primer intento de trasplante alogénico de médula ósea en humanos se llevó a cabo en los años 60 por *E. Donnall Thomas*, por lo que recibiría el premio Nobel de Medicina en 1990.

A finales de la década de los 60, existía ya un soporte adecuado de plaquetas, una mejoría en el tratamiento antibiótico y un desarrollo mayor de agentes antineoplásicos efectivos. Los primeros trasplantes alogénicos exitosos ocurrieron en 1968 y 1969, donde 2 pacientes que sufrían de inmunodeficiencias congénitas y uno con enfermedad de Wiskott Aldrich sobrevivieron al proceder.

Los primeros trasplantes autólogos en humanos se realizaron en 1950 por *Kurnick* y por *McGovern* en 1959. Estos implantes parecían proteger contra la toxicidad medular, pero su beneficio clínico era incierto, debido a la inefectividad en la erradicación de la enfermedad de base. El trasplante autólogo fue utilizado exitosamente, primero en pacientes con linfomas en los años 70, y su uso se amplió en todo el mundo en la década de los 80. Los inicios del trasplante de sangre periférica fueron en 1962, cuando *Goodman y Hodgson* demostraron la existencia de células progenitoras

hematopoyéticas 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 células progenitoras hematopoyéticas 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 células progenitoras hematopoyéticas en la sangre periférica. De esta forma, en 1981 se introdujo la sangre periférica como fuente de células progenitoras hematopoyéticas. De la demostración de la presencia de células progenitoras hematopoyéticas en la sangre de cordón umbilical se sugirió el uso de estas células para la realización de los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas y el primer trasplante exitoso de esta fuente se publicó por *Gluckman* y otros en 1989.<sup>24</sup>

Debido a la poca probabilidad de encontrar un donante familiar compatible, se realizaron los primeros trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas no relacionados en los años 70. La heterogeneidad de los haplotipos HLA hizo necesaria la realización de grandes paneles de donantes, hasta la existencia hoy del registro internacional de donantes, no familiares.

Una de las hipótesis para realizar los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas en las leucemias, es que la curación depende en gran medida del efecto injerto contra leucemia, más que del régimen de acondicionamiento, y por lo tanto, es posible lograr un control de la enfermedad a largo plazo, con regímenes menos agresivos. Esto sentó las bases para la introducción en la década de los 90, del trasplante no mieloablativo o también llamado "mini-trasplante".<sup>21</sup>

#### **4.2.2.1 Etapas del trasplante de progenitores hematopoyéticos**

**Acondicionamiento:** El trasplante de progenitores hematopoyéticos va precedido de un tratamiento de preparación del receptor que haga posible que las nuevas células puedan injertar. Esta etapa consiste en la administración de altas dosis de quimioterapia, radioterapia o ambas, simultánea o secuencialmente con la finalidad de la destrucción la hematopoyesis del paciente, como requisito para dejar espacio físico para el prendimiento de los progenitores hematopoyéticos a infundir, además de la anulación del sistema inmune del receptor para evitar que las rechace cuando sea trasplante alogénico. Otro objetivo de este tipo de acondicionamientos es erradicar la población maligna cuando la enfermedad de base es neoplásica, es decir el

acondicionamiento depende del tipo de enfermedad que se está tratando. 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 de un donador (trasplante alogénico). A este trasplante se la llama “mieloblatoivo” o convencional por su agresividad y toxicidad secundaria. Dicho trasplante se reserva para jóvenes y pacientes en buenas condiciones en general. Este tipo de trasplantes se asocia a daño en diversos órganos y tejidos; a dificultad para administrar efectivamente por vía oral medicamentos y para prevenir o tratar la EICH.

El acondicionamiento para un alotrasplante de progenitores hematopoyéticos implica dosis muy altas de fármacos de quimioterapia y/o radioterapia, por ello en pacientes de 55 años de edad en adelante o de mala salud en general era relativamente raro debido a que dicho acondicionamiento por lo general no era bien tolerado por estos pacientes y por tanto no eran candidatos para un alotrasplante. Por ello se han desarrollado regímenes de acondicionamiento previos al trasplante, que sean menos extenuantes y que podrían ser más adecuados para este tipo de trasplantes. A este tipo de acondicionamientos se les llama “no mieloblatoivo” que proviene de las raíces “mielo” palabra griega que quiere decir “medula” y “ablación” que significa destrucción. Por ello significa que no destruye completamente la medula afectada del paciente y que por tanto se ocupan dosis reducidas de fármacos. La eficiencia de los trasplantes no mieloblatoivos depende de una reacción denominada injerto contra neoplasia maligna (GVM) o injerto contra tumor, en la cual el nuevo sistema inmunitario del receptor (originado por las células madre donadas) puede destruir la mayor parte de las células cancerosas que quedan.

Los principales fármacos a utilizar son Ciclofosfamida, Busulfan, Citarabina, Melfalan o Eopósido. Dichos fármacos se pueden combinar en esquema doble o se administra quimioterapia junto con radioterapia en todo el cuerpo.<sup>21</sup>

**Busulfan** es un fármaco de quimioterapia oral, pertenece al grupo farmacéutico de los alquil sulfonatos. Es un importante agente citotóxico y un agente alquilante bifuncional. En medio acuoso, la liberación de grupos metanosulfonatos produce iones que pueden alquilar el ADN; se piensa que este es un importante mecanismo biológico para su efecto citotóxico. A través de alquilación, produce guanina-adenina intrastrandreticulaciones. Esto ocurre a través de una reacción SN2 en la que el nucleófilo guanina N7 ataca el carbono adyacente al grupo saliente mesilato. Este tipo

de daño no puede ser reparado por la maquinaria celular y por lo tanto la célula se somete a la apoptosis.

Su denominación química es 1,4-butanodiol dimethanesulfonato, cuando se emplea en altas dosis causa destrucción de la médula ósea. Se administra para destruir las células malignas de la médula ósea, pero también destruye las células normales remanentes y lleva a la desaparición de las células sanguíneas rojas, blancas y plaquetas, lo cual puede proporcionar anemia, infección o sangrado que puedan poner en peligro la vida.

Sus usos principales están en el trasplante de médula ósea, donde se utiliza como un fármaco acondicionador. Busulfan puede controlar la carga tumoral, pero no puede impedir la transformación o corregir las anomalías citogenéticas.

Otra aplicación de la droga sería con las combinaciones de otros fármacos con el propósito de destruir la médula ósea y las células cancerosas cuando los médicos se están preparando para un trasplante de médula ósea. Los riesgos por utilizar Busulfan persisten hasta que el injerto de medula ósea empieza a funcionar. Para resolver este problema el paciente puede recibir tratamientos de soporte como transfusiones de productos sanguíneos y permanecerá en aislamiento.

Como efectos secundarios pueden incluir náuseas y vómito temporal lo cual debe ser controlado con fármacos, además causa daño pulmonar por la fibrosis pulmonar intersticial (caracterizado por tos), la hiperpigmentación, convulsiones, insuficiencia hepática (enfermedad veno-oclusiva), fiebre y disnea con dosis bajas y prolongadas. El Busulfan también induce trombocitopenia, un trastorno del recuento de plaquetas de sangre y baja actividad. Hay un alto riesgo de infertilidad con altas dosis.

La fenitoína puede usarse al mismo tiempo para evitar las convulsiones. Levetiracetam, ha demostrado su eficacia para la profilaxis contra ataques inducidos por el busulfán. Las benzodiazepinas también se pueden utilizar para busulfano convulsiones inducidas.<sup>16</sup>

La Ciclofosfamida fue sintetizada primero en 1958 por Arnold and Bourseaux; el compuesto, así como algunos análogos, fueron sintetizados con el conocimiento sobre la estructura y las actividades de otros medicamentos contra el cáncer ya existentes. La Ciclofosfamida es el agente alquilante más usado. Al ser tomado por la célula, es metabolizado extensivamente. El compuesto es transformado primero en intermediarios hidroxilados por el sistema de la citocromo P-450. Los intermediarios hidroxilados son procesados para formar compuestos activos, la mostaza fosforamida y la acroleína. La reacción de la mostaza fosforamida con el ADN es considerada la

etapa citotóxica. La resistencia resulta del aumento en el reparo del ADN, disminución en la absorción del agente, y la reacción del agente con antioxidantes tales como los tioles. La resistencia cruzada no ocurre en todos los casos.

La Ciclofosfamida es un fármaco inmunosupresor, ayuda a que el receptor acepte la médula del donador, se administra por vía intravenosa por dos días consecutivos. El tratamiento con altas dosis puede producir retención de líquidos, sangrado de la vejiga, y rara vez reducción en la fuerza del musculo cardiaco. También causa transitorio vomito y diarrea. La pérdida de cabello es el resultado de 2 a 3 semanas de su uso y el cabello crece de 2 a 3 meses. Dosis altas pueden ser fatales si la trasfusión de medula ósea no ocurre pues existe una pequeña posibilidad de que la medula no pueda crecer.

El acondicionamiento se administra durante la semana anterior al trasplante. La cantidad de días y secuencia de tratamiento dependen del régimen de acondicionamiento específico.<sup>16</sup>

**Tratamiento de Soporte.** Tiene como finalidad 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 nutricional y soporte psico-social del paciente y su familia.

**Manipulación ex vivo del inoculo.** Tiene como objetivos, eliminar las posibles células neoplásicas en el caso de un autotrasplante, eliminar los linfocitos T para reducir el riesgo 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 precursores hematopoyéticos** El proceso de infusión consiste en que; luego de la administración de un acondicionamiento, las células son descongeladas en un baño de agua caliente y reinfundidas al torrente sanguíneo del paciente inyectadas a través de catéter venoso central. Este procedimiento es denominado trasplante. Este proceso se realiza en la habitación del paciente, es decir no es un procedimiento quirúrgico y generalmente tarda 15 minutos. Las células progenitoras hematopoyéticas viajan a través del torrente sanguíneo para anidar en la medula ósea y comenzar a producir las diferentes extirpes celulares en un proceso llamado prendimiento del injerto.

**Complicaciones del trasplante de progenitores hematopoyéticos.** Los pacientes durante el proceso son examinados a menudo para detectar signos de fiebre, escalofríos, urticaria, descenso de la presión arterial o dificultades para respirar. Pueden presentarse efectos secundarios tales como dolor de cabeza, náuseas, rubor y dificultad para respirar, entre otros. Estos generalmente pueden controlarse y es posible completar la infusión. Las complicaciones del trasplante se pueden clasificar atendiendo el periodo de presentación, considerándose tres fases:

1. Fase de acondicionamiento. Dura aproximadamente unas 3 semanas (10-12 días si se utilizan progenitores de sangre periférica y hasta 4 semanas si se utiliza 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.

El tratamiento de acondicionamiento previo al trasplante puede afectar cualquier sistema que depende del remplazo de células madre. En particular a los órganos que son más sensibles a los fármacos citotóxicos y a las radiaciones como tubo digestivo, piel, folículos pilosos, pulmones, vasos sanguíneos e hígado.

Las infecciones constituyen la complicación más importante durante el primer periodo causando la mayoría de muertes; son consecuencia de neutropenia y del daño a las barreras mucosas y cutáneas por el acondicionamiento, además de medidas invasivas como la colocación de catéteres, así como la inmunodeficiencia ocasionada por la enfermedad de base y el uso de inmunosupresores en los trasplantes alogénicos. Como resultado de la inhibición de los glóbulos blancos se conlleva a un alto riesgo de infecciones oportunistas (también provocado por la profilaxis antibiótica), así como a una amplia variabilidad de la localización de la infección siendo frecuente la presencia de fiebre sin focos infecciosos.

Las complicaciones derivadas de la aplasia son debidas a la falta de células sanguíneas hasta la recuperación hematopoyética, fundamentalmente anemia, hemorragia e infecciones.

2. Fase postrasplante inmediata. Esta fase incluye el periodo comprendido entre la recuperación de la fase medular y los tres meses postrasplante y se caracteriza fundamentalmente por dos tipos de complicaciones: infecciones y enfermedad injerto contra huésped.

La enfermedad injerto contra huésped es un trastorno en el cual las células progenitoras hematopoyéticas 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.

3. Fase tardía. Va desde los tres meses hasta el año, que es cuando se reconstituye el sistema inmunitario del paciente. Las infecciones son la complicación más frecuente y se da en los pacientes con trasplante alogénico que sufren EICH. En estos casos se mantienen los defectos de la inmunidad humoral y celular, así los pacientes tienen riesgo de sufrir infecciones por CMV, virus varicela zóster, virus Epstein Barr, virus respiratorios y por bacterias encapsuladas como H. influenza y S. Pneumoniae.

**Periodo post trasplante.** Para los tres primeros días después del trasplante, los efectos del régimen de acondicionamiento y la disminución de la función medular comienzan a tener efecto. Se debe mantener al paciente en un entorno protegido para minimizar el contacto con agentes infecciosos. Se pueden llegar a realizar transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas periódicamente hasta que las células madre trasplantadas restablezcan 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 funcionen con normalidad. 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 de aire (flujo laminar, presión positiva, con filtros de alta eficiencia) medidas de aislamiento invertido para las visitas, alimentación descontaminada (estéril baja en bacterias) y adecuado lavado de manos, a esta técnica se le llama aislamiento invertido. En esta técnica el paciente es dejado libre en una habitación limpia y las personas que entren en contacto con él, serán totalmente protegidas además de llevar a cabo una limpieza de manos antes de entrar a la habitación. Además se utilizan antibióticos profilácticos como antibacterianos, antifúngicos, antivirales y antiprotzoarios. 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 un tratamiento antibiótico de amplio espectro y generalmente se siguen administrando

hasta que reaparecen los leucocitos en la sangre en cantidades suficientes como para que sea improbable la aparición de infecciones.

**Enfermedad injerto contra huésped.** Las diferencias detectadas por las células infundidas implican las proteínas de la superficie celular que no se detectan mediante HLA, o que hayan diferencias en el tipo de HLA que permitan el trasplante pero causen la reacción. Muchos pacientes sufren esta reacción aunque varía desde apenas perceptible hasta una amenaza para la vida y es sumamente grave en pacientes con edad avanzada. El riesgo de EICH es mayor si el donante y receptor son del distinto sexo. La EICH puede ser aguda o crónica. La fase 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. Es 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. Estos son los responsables del daño sobre las células del receptor que expresan antígenos HLA de clase I. También intervienen las células NK y los macrófagos que participan la reacción liberando citocinas. Los linfocitos T activados liberan también Interferon-g, que aumenta la expresión de antígenos HLA de clase II, lo que aumenta un estímulo a linfocitos T y NK. Afecta fundamentalmente a tres órganos diana: Piel, Hígado e Intestino.

En la EICH se sufren los siguientes problemas:

En la piel, puede aparecer una erupción y picazón, puede volverse escamosa, y si la reacción es grave se puede perder área de la piel, el color de esta puede oscurecerse tal que la textura se torna muy dura e incluso el movimiento de las articulaciones pueden quedar restringido. Las lesiones de la piel pueden ir acompañadas de caída de cabello.

La parte interior de la boca y el esófago, pueden reseca en exceso y lastimarse. Pueden aparecer úlceras y la tendencia a la sequedad puede conducir al cese de formación de lágrimas y producir sequedad vaginal y en otras superficies. Los pulmones 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 manifestada pero puede ser detectada en la química sanguínea o en casos graves producir ictericia.

Generalmente la EICH crónica ocurre después del tercer mes posterior al trasplante y puede que no se desarrolle hasta un año 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 EICH aguda. La EICH crónica puede ser leve con mejoras o más grave, persistente e incapacitante.

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

Los adelantos en las técnicas de trasplante, tales como la verificación más exacta de la compatibilidad HLA, el tratamiento de fármacos inmunosupresores y esteroides (metilprednisona o Prednisona o micofenolato mofetil), así como ciclosporina A y Metrotexate, la reducción de linfocitos T del injerto del donante y el uso de sangre de cordón umbilical como fuente de células donantes han ayudado a reducir el riesgo que el paciente tiene de padecer EICH.<sup>21</sup>

La **ciclosporina** (INN) es un medicamento inmunosupresor ampliamente usado en el trasplante de órganos alogénicos para reducir la actividad del sistema inmunitario del paciente y el riesgo de rechazo del órgano. Ha sido estudiada en el trasplante de piel, corazón, riñón, pulmón, páncreas, médula ósea e intestino. La ciclosporina es un péptido no ribosomal cíclico de 11 aminoácidos (undecapéptido). Además de la medicina de trasplantes, la ciclosporina se usa también en la psoriasis y dermatitis atópica e infrecuentemente en la artritis reumatoide y enfermedades relacionadas, aunque sólo en los casos más severos. Ha sido investigada para el uso en muchas otras enfermedades autoinmunes. La ciclosporina A ha sido investigada como posible agente neuroprotector en condiciones como accidente cerebrovascular y ha sido visto en experimentos animales para reducir el daño cerebral asociado con traumatismos. La ciclosporina A bloquea la formación del poro de transición de permeabilidad mitocondrial, el cual se ha relacionado como responsable de gran parte del daño asociado con traumatismos craneales y enfermedades neurodegenerativas. La ciclosporina fue diseñada para unirse a la proteína citosólica ciclofilina (una inmunofilina) de linfocitos inmunocompetentes, especialmente linfocitos T. Este complejo de ciclosporina y ciclofilina inhibe la calcineurina, la cual bajo circunstancias

normales es responsable por activar la transcripción de interleucina-2 (Il-2). También inhibe la transcripción de la producción de linfocinas y la liberación de interleucinas y por lo tanto conduce a una reducción en la función de las células T-efectoras (linfocitos T efectoras), sin afectar la actividad citostática. Tiene también un efecto sobre las mitocondrias. La ciclosporina A inhibe la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial, de esta forma, inhibe la liberación del citocromo c, un potente factor de estimulación de apoptosis. Sin embargo, este no es el principal modo de acción para su uso clínico, pero si es una importante herramienta para la investigación acerca del fenómeno de la apoptosis, o muerte celular programada.

En su aplicación la ciclosporina debe ser monitorizada además de la función hepática (puede provocar aumento de bilirrubina sérica y ocasionalmente de enzimas hepáticas, lo que puede precisar una reducción de dosis) y renal (aumento de creatinina y urea séricas al inicio del tratamiento. Reducir la dosis en un 25-50% cuando la creatinina sérica permanezca incrementada por encima del 30% del nivel de creatinina registrado antes de iniciar la terapia en más de una determinación), presión arterial, potasio, magnesio sérico, lípidos. Precaución en hiperuricemia, con metotrexato a largo plazo, con otros inmunosupresores, lercanidipino, suplementos de K, fármacos ahorradores de K (diuréticos ahorradores de K, IECA, antagonistas del receptor de la angiotensina II) o que lo contienen. Riesgo de infecciones bacteriana, fúngica, parasitaria y vírica (emplear estrategia profiláctica y terapéutica efectiva), desarrollo de linfomas y neoplasias de piel.

La ciclosporina A se administra el día previo al trasplante por vía endovenosa y se continuara hasta que sea capaz de tolerar la vía oral. Mezclándola con bebidas (jugos), se administra hasta 6 meses después del trasplante y en caso de presentar EICH crónico deberá usarse más tiempo. Puede producir hiperplasia gingival, convulsiones, úlcera péptica, pancreatitis, fiebre, vómito, diarrea, confusión, dificultades respiratorias, confusión y hormigueo, prurito, hipertensión arterial, retención de potasio y posiblemente hiperkalemia, pérdida del apetito y náuseas, las cuales son generalmente bien toleradas o tratadas con antieméticos. Aumenta el crecimiento del vello facial y corporal, ocasionando oscurecimiento de la piel que se resuelve al dejar el medicamento, disfunciones de riñón y de hígado (nefrotoxicidad y hepatotoxicidad). También causa anomalías de la función renal, ocurren en la mayoría de los pacientes, por lo que los pacientes se mantienen en vigilancia y en un adecuado manejo de líquidos. Otra complicación es el daño hepático, por ello se debe poner especial atención al funcionamiento hepático durante el periodo del trasplante. Las convulsiones son un efecto colateral raro y puede ser evitado o tratado con

medicamentos específicos. Algunos pacientes experimentan un ligero temblor el cual desaparecerá al suspender el fármaco, también se puede presentar confusión mental, visión doble o pérdida temporal de la visión. El aumento de la presión es un efecto común, este es reversible y en ocasiones es necesario administrar con antihipertensivos y obviamente un incremento en la vulnerabilidad a hongos y virus oportunistas (infección) por la inmunosupresión que el medicamento desencadena.<sup>16</sup>

El **Metrotexate** (MTX) es un medicamento usado en el tratamiento del cáncer, enfermedades autoinmunes y la inducción de aborto terapéutico.

Fue usado inicialmente como parte de quimioterapia combinada para el cáncer. Actualmente es medicamento de primera línea para el tratamiento de algunas enfermedades neoplásicas como la leucemia linfoblástica aguda.

Se usa para el tratamiento de algunas enfermedades autoinmunes demostrando una mejoría marcada en los síntomas. El Metrotexate (también llamado ametopterina) es un antimetabolito de la familia de los folatos. Es un análogo de la aminopterina, producto que también deriva del ácido fólico. El Metrotexate es uno de los pocos fármacos que puede ser administrado intratecalmente y atizando en los casos de metástasis que afectan el sistema nervioso central.

El Metrotexate también posee efectos inmunosupresores y es utilizado en el tratamiento de la artritis reumatoide, en la prevención de la enfermedad injerto contra huésped y en otras enfermedades autoinmunes. Inhibe competitivamente la dihidrofolato-reductasa, enzima responsable de convertir el ácido fólico a tetrahidrofolato, el cofactor necesario para la transferencia de un carbono en muchas reacciones metabólicas. Algunas de estas reacciones afectan la proliferación celular, incluyendo la síntesis de ácido timidílico y de los precursores nucleótidos del DNA y RNA. La inhibición de la timidilato-sintasa es, quizás, su efecto más importante resultando en una inhibición de la síntesis del DNA. Los efectos inhibidores dependen de sus concentraciones intracelulares, y los tejidos con mayor metabolismo celular y crecimiento más rápido son los más afectados. Entre estos, se encuentran los tejidos neoplásicos, los folículos capilares, las células epiteliales del tracto digestivo y las células de la médula ósea. Inhibe la proliferación celular en la fase S del ciclo celular. En dosis altas (> 30 mg/m<sup>2</sup>) inhibe las células en la fase S y ralentiza la entrada desde G1 a S. Adicionalmente, el Metrotexate puede inhibir la síntesis de proteínas debido a la reducción que experimentan los cofactores del folato, siendo este posiblemente el mecanismo por el cual las dosis altas paran las células en la fase G1. Un factor crítico sobre los efectos citotóxicos es la duración de la exposición al mismo, por lo que una

exposición prolongada, incluso a dosis bajas, puede producir una citotoxicidad y toxicidad significativas. El Metrotexate penetra en las células utilizando 2 sistemas de transporte: el primero utiliza un transportador de folato reducido que muestra una alta afinidad hacia el Metrotexate y también para los folatos reducidos, mientras que el segundo consiste en una difusión pasiva. Este último mecanismo no reviste gran importancia a menos que se administre en dosis muy altas (concentraciones séricas > 100 mM). Una vez en el interior de la célula, el Metrotexate experimenta la polimerización de la cadena lateral de ácido glutámico para formar el poliglutamato de metotrexato. Tanto el Metrotexate como su derivado poliglutámico inhiben la dihidrofolato-reductasa. Sin embargo, el derivado poliglutámico, al ser de mayor tamaño resiste mejor que el Metrotexate el transporte hacia afuera, mecanismo por el cual, las células se libran de productos tóxicos. La formación del derivado poliglutámico del metotrexato se lleva a cabo con mayor facilidad en las células tumorales que en las células de mamífero lo que explica la relativa selectividad del fármaco hacia las células tumorales. La formación del poliglutamato de metotrexato (PG-MTX) depende tanto de la concentración intracelular del fármaco, como de la duración de la exposición. La administración de dosis elevadas de Metrotexate para originar altas concentraciones extracelulares es una forma de soslayar la aparición de resistencias que se producen durante el tratamiento convencional secundaria a los cambios en los sistemas de transporte de la membrana.

El Metrotexate posee igualmente propiedades inmunosupresoras y también puede mostrar propiedades anti-inflamatorias.

El Metrotexate se administra en los primeros 11 días después del trasplante. Puede producir micosis bucal, el cual es transitorio y mejora cuando los leucocitos regresen a su cuenta normal. Otros efectos posibles del fármaco son náuseas, alteración del hígado y una lenta recuperación de las células sanguíneas. Todas sus reacciones son reversibles.<sup>16</sup>

La **Prednisona** pertenece al grupo farmacoterapéutico de los corticosteroides para uso sistémico. Su mecanismo de acción: los esteroides interaccionan con receptores citoplasmáticos intracelulares específicos. Una vez formado el complejo receptor-glucocorticoide, éste penetra en el núcleo, donde interactúa con secuencias específicas de ADN, que estimulan o reprimen la transcripción génica de ARNm específicos que codifican la síntesis de determinadas proteínas en los órganos diana, que, en última instancia, son las auténticas responsables de la acción del corticoide.

Acción antiinflamatoria: Su acción es independiente de la etiología (infecciosa, química, física, mecánica, inmunológica) y conlleva la inhibición de las manifestaciones inmediatas (rubor, calor, dolor, tumefacción) y tardías de la inflamación (proliferación fibroblástica, formación de fibrina, cicatrización). Los glucocorticoides inducen la síntesis de lipocortina-1, que inhibe la activación de la fosfolipasa A2, (enzima que libera los ácidos grasos poliinsaturados precursores de las prostaglandinas y leucotrienos y factor de agregación plaquetaria (PAF), todos ellos mediadores del proceso inflamatorio).

Acción inmunodepresora: Produce una disminución de la respuesta inmunológica del organismo al interferir en las señales interleucocitarias mediadas por las linfoquinas. Inhiben la interacción macrófago-linfocito y la posterior liberación de IL-2; como resultado, suprimen la activación de los linfocitos T producida por antígenos y la síntesis de citocinas por los linfocitos T activados.

Como consecuencia de estas acciones de la Prednisona, se utiliza en determinadas situaciones de emergencia.

La Prednisona se utiliza como tratamiento de la EICH, puede producir aumento en el peso y edema facial y aumento de la glicemia, que desaparecen al suspender el fármaco, además aumenta el riesgo de infecciones.<sup>16</sup>

**Implante o injerto.** El prendimiento del injerto 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 evalúan el proceso tomando biometrías hemáticas. 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 uno o dos años para pacientes que se sometieron a un trasplante alogénico o Singénico.

Tanto las células T como las NK del donante y del receptor, así como las 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 del receptor.

Es conocido que las células CD34+ influyen en un injerto de diferentes formas. Estas células pueden bloquear la función de las células T del receptor, a través de un efecto de "veto" que pueden bloquear la función de las células T 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 en los 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 mieloblivos 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 predominante 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 medula 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. Se considera fallo del injerto cuando las células progenitoras hematopoyéticas trasplantada 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 del implante tras el trasplante pero la mayoría de los autores lo consideran cuando existen:

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

En general se ha descrito dos tipos de fallo del injerto. El primario, en el cual no existe evidencia de recuperación hematopoyética tras el proceso y el secundario cuando hay fallo de implante tardío en el cual se produce inicialmente una recuperación hematopoyética 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 en caso de un fallo del injerto es difícil. Si existen datos indicativos de prendimiento puede intentarse un tratamiento con el factor de crecimiento granulo-macrofágico y una segunda infusión de progenitores hematopoyéticos. Si no hay evidencia de hematopoyesis derivada del donante, esta segunda infusión debe ir precedida por un nuevo régimen de acondicionamiento inmunosupresor.

Una importante herramienta clínica en la evaluación de los trasplantes de células hematopoyéticas es el estudio del quimerismo, el cual permite conocer si el sistema linfohematopoyético del donante ha sido capaz de implantarse en el organismo del receptor y si lo ha hecho desplazándose al sistema linfohematopoyético del receptor o se encuentra coexistiendo en equilibrio con este. La evaluación de la reconstitución

hematopoyética 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 hematopoyético que se está formando. En estas últimas décadas se han desarrollado diferentes metodologías que permiten conocer cualitativamente y cuantitativamente el origen de estas nuevas células hematopoyéticas, a la vez que permiten realizar un seguimiento exhaustivo del injerto en los pacientes trasplantados, las técnicas más utilizadas son: el estudio del fenotipo eritrocitario, el estudio de los cromosomas sexuales mediante análisis citogenético, técnicas de hibridación in situ fluorescente (FISH) y PCR y estudio de polimorfismo de DNA. Dichas técnicas son capaces de distinguir entre células del receptor y del donante. La literatura recomienda que se realice el estudio a los 30, 60, 90, 120 días, 6 meses y 12 meses.

**Recuperación hematológica.** Suele iniciarse 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 inicial hematológica es cuando pueden evidenciarse los primeros signos y síntomas de EICH.

**Reconstitución inmune.** En el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se experimenta un periodo prolongado de difusión 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 provoca que estos pacientes tengan un alto riesgo de infecciones con alta tasa de mortalidad. 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 un trasplante autólogo, la reconstitución inmunológica es particularmente mas 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 urge de las alteraciones cualitativas y cuantitativas de linfocitos T y B, lo que en ausencia de EICH se resuelve en un periodo de 6 a 12 meses. Después del trasplante, 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, los niveles de linfocitos CD8 permanecen bajos y son normales entre los 9 y 12 meses, los niveles normales de cd3

y cd4 se alcanzan hasta los 12 meses, las células NK se normalizan hasta los tres meses, los neutrófilos se recuperan en 2 o 3 semanas pero se mantiene una disminución de la quimiotaxis por un periodo de hasta cuatro meses, el número de monocitos en la sangre periférica 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.<sup>21</sup>

#### 4.2.3 Tipos de Trasplante

Los tipos de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas puede clasificarse como:

Alogénico: efectuado entre individuos de una misma especie. El procedimiento implica la infusión de Células Progenitoras Hematopoyéticas 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).

No familiares, total o parcialmente compatibles: debido a la limitación de los tipos de trasplantes, se ha trabajado para aumentar las posibilidades de donantes no relacionados, los cuales alcanzan más de 7,5 millones en todo el mundo. En la actualidad, el 25 % de los trasplantes alogénicos son 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 de donantes no emparentados o no relacionados, y entre ellas están las siguientes:

1. Confirmar que en el estudio de los familiares no existe algún donante compatible.
2. Valorar los riesgos y beneficios de este tipo de trasplante frente a otras opciones como el autotrasplante y la quimioterapia.
3. Considerar las condiciones generales: edad y ausencia de alteraciones neurológicas en enfermedades congénitas.

Singénico o isogénico: En este caso, el donante y el receptor son gemelos homocigotos y, por lo tanto, no existen entre ellos diferencias genéticas ni inmunológicas.

Como todo tipo de trasplante tiene sus ventajas y desventajas con poca o ninguna posibilidad de EICH y no necesita inmunosupresión.

Autólogo o autotrasplante de médula ósea: La experiencia acumulada con el trasplante alogénico, permitió comprobar *in vivo* el efecto curativo sobre algunas neoplasias hematológicas del uso de megadosis terapéuticas. Sin embargo, el aumento de la dosis se encuentra limitado por la aparición de toxicidades graves. Resulta especialmente crítica la provocada en la médula ósea, que conduce a una mielosupresión prolongada. De esta forma, la necesidad de garantizar una función hematopoyética correcta tras un tratamiento quimiorradioterápico en dosis elevadas, junto con las limitaciones del trasplante alogénico, ha sido la causa del desarrollo del autotrasplante en los últimos años.

Este tipo de trasplante consiste en obtener células progenitoras hematopoyéticas del propio paciente, conservarlas y reinfundirlas, después de administrar dosis de quimioterapia y/o radioterapia ablativa. Aunque su uso comenzó más tardíamente, en la actualidad es el tipo de trasplante más utilizado.<sup>24</sup>

El régimen de acondicionamiento y la extracción de la médula se realizan de forma similar al trasplante alogénico, pero la inmunosupresión postrasplante no es necesaria. Es importante la criopreservación en este tipo de trasplante. En la actualidad, la fuente más utilizada para el autotrasplante son las células obtenidas de la sangre periférica movilizada por medio de procedimientos de aféresis.

#### 4.2.4 Diferentes fuentes de células progenitoras hematopoyéticas

**Médula ósea:** fue la primera fuente utilizada. Las Células Progenitoras Hematopoyéticas se obtienen por aspiración medular.

La mayoría de los equipos que realizan el trasplante de Modula Ósea siguen la técnica de Thomas: al donante (o al paciente en el caso de un autotrasplante), se le administra en el quirófano anestesia raquídea o sedación y se practican entre 100 y 200 punciones aspirativas en las crestas ilíacas, con las que se obtienen en el adulto normal entre 800 y 1 200 mL de sangre medular con un contenido de entre 1,5 y 3,5 X10<sup>8</sup> células /Kg. del receptor. En el niño se debe obtener una muestra de 10-20 mL por Kg. del receptor.

A medida que se extrae la médula se deposita en un medio heparinizado para al final, pasarla a través de filtros de 200 a 300 nm de luz. De esta forma, los grumos medulares se convierten en suspensiones celulares y se eliminan las esquirlas óseas. En el trasplante de Modula Ósea alogénico de sangre medular se transfunde 24 horas después de finalizado el régimen de acondicionamiento por vía intravenosa. Las células progenitoras hematopoyéticas son capaces de llegar o regresar a la médula en un día. En el trasplante de Modula Ósea autólogo la sangre medular se criopreserva hasta el momento de la transfusión.<sup>24</sup>

**Sangre periférica:** en 1981, después de descubrir que los factores de crecimiento hematopoyéticos causaban una liberación transitoria de Células Progenitoras Hematopoyéticas en la sangre periférica, se comprobó que un número suficiente podía ser recolectado por leucoféresis y se lograba un implante rápido y mantenido después de la infusión. Recientemente, el uso de sangre periférica movilizada como fuente de Células Progenitoras Hematopoyéticas, ha aumentado. En el año 2000, más del 95 % de los adultos y el 80 % de los niños y adolescentes utilizaron la sangre periférica movilizada como fuente de Progenitores Hematopoyéticos, y en los trasplantes alogénicos realizados, más del 50 % de los trasplantes HLA idénticos, la mayoría de los haploidenticos y singénicos, así como un tercio de los no relacionados, utilizaron esta fuente.

Las células pueden ser recolectadas después de la utilización de varios métodos como el uso de quimioterapia, de factor estimulador de colonias (FEC) o de ambos, así como de una combinación de FEC, o el uso de estos factores de forma secuencial. Para el

trasplante alogénico de SP exclusivamente se emplean los FEC para la movilización de las células del donante, ya que se trata de un individuo sano y éticamente no es aceptable el uso de quimioterapia.

Por lo general después del 4to. o 5to. día de la movilización, las células se recolectan con una máquina separadora, con la que se obtienen las células mononucleares, y se reinfunden al donante los otros componentes de la sangre. Para este proceder se requieren 2 accesos venosos, para permitir un proceso continuo. En muchos pacientes o donantes preparados para movilizar células hematopoyéticas, generalmente la extracción de un solo día no es suficiente para lograr el implante, ya que el número de células es pequeño, por lo que se requiere repetir el proceso durante varios días. Es necesario obtener un gran volumen de leucoféresis, que representa aproximadamente 20 L en un adulto o de 2 a 4 volúmenes sanguíneos en un niño. Para esto se necesitan realizar 2 o más días de aféresis, sobre todo cuando se va a efectuar un trasplante autólogo y en pacientes tratados previamente con quimioterapia. En los enfermos no tratados con quimioterapia intensiva, así como en donantes sanos para un trasplante alogénico, generalmente se requiere una sola sesión. La movilización inducida por quimioterapia, que se emplea en los trasplantes autólogos, se puede lograr con el uso de varios regímenes mielobláticos, siendo uno de los utilizados es el que emplea la Ciclofosfamida (CFM) generalmente en una dosis total de 2 g/m<sup>2</sup> durante 2 días.

Actualmente los estudios muestran que el uso combinado de FEC granulocítico (G-CSF) junto con el etopósido, moviliza diferentes subtipos de células dendríticas, lo que favorecería una mejor generación de respuesta inmunológica, dado a que estas células están reconocidas como células presentadoras de antígenos.

Se ha utilizado el *stem cell factor* (SCF) recombinante en pacientes que no responden a la movilización para trasplantes de SP con FEC o a la combinación de este con quimioterapia. Se ha empleado el mismo régimen anterior, en el cual se obtuvo una movilización pobre, más el SCF, que resultó en la obtención de un número suficiente de células CD34+ con una gran capacidad de reconstitución hematopoyética. En los pacientes que no logran una movilización adecuada, en condiciones como fibrosis o metástasis medular, y también en los trasplantes alogénicos, se utiliza con éxito el trasplante de médula estimulada con G-CSF, cuya eficacia es comparada con el TCPH de SP movilizado con este factor, con menor incidencia de EICH-A y crónica (EICH-C).

Los donantes sanos de CPH de SP deben tener los siguientes requisitos:

Hemoglobina >11g/dL.

Recuento plaquetario  $150 \times 10^9/L$  antes de comenzar el tratamiento de movilización.

Resultados negativos de estudios virológicos (citomegalovirus, hepatitis B, C y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Si no se consigue la celularidad necesaria con un solo proceso de aféresis, los requisitos para las donaciones subsiguientes deben ser: hemoglobina > 10 g/L y recuento plaquetario  $70 \times 10^9/L$ . La edad no constituye una limitante.

El empleo de esta fuente celular tiene problemas éticos derivados del uso de FEC en donantes sanos para la movilización celular, ya que persiste la duda de si se puede lograr o no una permanente reproducción de las células hematopoyéticas. El otro problema ético está relacionado con la posibilidad de alto riesgo de EICH, causado por el mayor contenido de células T.

La administración de FEC, causa la mayoría de los síntomas en el donante. Estos incluyen dolor lumbar, óseo y muscular, cefalea, hipotensión, malestar general, somnolencia, pérdida de apetito, erupción, náuseas, fiebre, retención de líquidos, etc. Se han descrito casos de paro cardíaco e infarto del miocardio durante la aféresis en donantes con antecedentes de enfermedades cardiovasculares. Otras complicaciones incluyen aumento de tamaño del bazo y ruptura esplénica, así como signos de hematopoyesis extramedular. También se puede presentar epiescleritis e iritis. Un sangrado por trombocitopenia producido después de la administración del G-CSF en pacientes que comienzan con un número de plaquetas bajo, es debido al aumento de la agregación plaquetaria.<sup>24</sup>

***Cordón umbilical.*** Gracias a los avances científicos se ha descubierto otra estirpe de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical considerando un intermedio entre la placenta y el bebe mientras este se encuentra dentro del útero. Se trata de células que se encuentran con gran potencialidad para curar enfermedades, una abundante cantidad de éstas circula por la sangre de los recién nacidos y muchas quedan en la sangre del cordón umbilical y la placenta. El reconocimiento que las células de la SCU tienen características de crecimiento, capaces de producir una repoblación a largo plazo de células hematopoyéticas, llevó a la idea de obtener células de la placenta y de la vena umbilical después del parto para el trasplante alogénico. La importancia del cordón umbilical radica en que durante la gestación, la vida del feto depende totalmente del organismo de la madre, no es capaz de

alimentarse por sí solo, ni de eliminar los materiales de desecho, todas estas funciones son posibles gracias a la presencia de la placenta y del cordón umbilical, que constituye un auténtico puente entre el feto y la vida exterior, además de estar directamente relacionados con la circulación fetal.

El cordón umbilical es una estructura flexible que comunica al ombligo del feto de la placenta. A su través circulan dos venas umbilicales que retiran la sangre venosa fetal y una arteria capaz de llevar sangre arterial. Tiene aproximadamente 50 cm de longitud y un centímetro de diámetro y se forma dentro de las primeras 5 semanas de embarazo. La placenta ejerce un efecto de filtro, ya que permite el paso hacia el feto solo de algunas sustancias bloqueando el paso de otras. Cuando el feto nace el primer fenómeno habitualmente es el colapso de las arterias umbilicales. El flujo a través de la vena umbilical persiste durante algunos minutos después del parto, antes de la sección o ligadura del cordón permitiendo de esta manera el retorno de la sangre de la placenta hacia el niño. La sangre remanente que queda en la placenta y el cordón umbilical una vez que el recién nacido ha sido separado de estos, es sangre procedente del recién nacido. Este producto es llamado sangre de cordón umbilical y es el que tiene un alto contenido de células progenitoras hematopoyéticas.<sup>21</sup>

El primer trasplante alogénico de SCU exitoso, se realizó en 1989 por la Dra. Eliane Gluckman para tratar a un niño con anemia de Fanconi y se usó como donante su hermana HLA idéntica. Aunque la mayoría de los trasplantes de células de cordón umbilical han ocurrido en niños, también han sido capaces de restablecer la hematopoyésis en adultos. En 1997 el equipo de la Dra. Gluckman demostró que el trasplante de sangre de cordón umbilical incluso entre donantes y receptores no emparentados es más seguro que el trasplante de médula ósea. Así se ha conseguido el cultivo de células progenitoras hematopoyéticas (Universidad de Wisconsin 1998), y el desarrollo exitoso de la terapéutica de las células de cordón umbilical dirigidas al tejido cardíaco; trasplantadas para regenerar el daño cardíaco (Universidad de Duke Carolina del Norte 2004); abrieron la posibilidad del uso terapéutico de las células progenitoras hematopoyéticas de sangre del cordón umbilical.<sup>18</sup>

En México el Banco de Sangre de Cordón Umbilical del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea realizó el 16 de marzo de 2004 el primer trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical de población mexicana no emparentado, en un niño de 10 años con leucemia linfoblástica de células T, el cual respondió favorablemente.

Se ha demostrado, que la SCU de recién nacidos tanto a término como pre término, contiene un número determinado de progenitores hematopoyéticos inmaduros y

comprometidos, capaces de producir el implante en niños y adultos con 1 -2 antígenos HLA incompatibles. El trasplante de CPH procedentes de SCU, constituye una alternativa válida para aquellos pacientes, principalmente niños, que necesitan regenerar su médula ósea y que carecen de un donador compatible. Actualmente es la tercera fuente de células para trasplante en adultos y la segunda en niños. Se ha empleado en enfermedades genéticas y malignas y se ha utilizado en pacientes con compatibilidad total o parcial, familiares y no familiares. 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 donante y el receptor y bajo riesgo de EICH. La eficacia del trasplante de sangre de cordón umbilical 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 se debe de contar con unidades de Sangre de Cordón Umbilical que cumplan con controles que aseguran la calidad funcional del producto (calidad hematopoyética) y con controles destinados a la seguridad del receptor (calidad trasfusional).

Las células que expresan el antígeno CD+34 en la sangre de cordón umbilical se encuentran en una porción del orden de menos de 0.2 – 1.0% de las células mononucleadas. La dosis recomendada de células nucleadas por kg de peso del receptor es de  $3.7 \times 10^7$  como dosis óptima y de  $2 \times 10^7$  como dosis mínima.

La experiencia clínica ha demostrado que la sangre de cordón umbilical contiene suficientes células progenitoras hematopoyéticas como para reconstruir la hematopoyesis en pacientes de hasta 40 kg de peso. En pacientes con mayor peso, se ha realizado con éxito los primeros trasplantes utilizando dos unidades procedentes de dos donadores diferentes.

Las unidades de progenitores hematopoyéticos procedentes de la sangre de cordón umbilical presentan algunas ventajas en comparación con otras fuentes de progenitores hematopoyéticos (médula ósea y sangre periférica) como son:

**Número de células progenitoras hematopoyéticas:** La medicina basada en evidencia ha demostrado que una unidad de sangre de cordón umbilical (SCU) contiene suficientes células hematopoyéticas para reconstituir la hematopoyesis en pacientes, hasta de 60 kg de peso. En pacientes adultos, el uso de 2 unidades de SCU proporciona la dosis adecuada de células.

**Capacidad proliferativa de las células progenitoras hematopoyéticas:** Se ha demostrado que las características de las células progenitoras de la SCU difieren de

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

**Alorreactividad disminuida:** Si bien la capacidad de proliferación de los linfocitos T de la SCU, frente a estímulos alogénicos primarios es similar a la de la sangre o la médula ósea del adulto, su actividad citotóxica basal es menor, como posible consecuencia de la tolerancia mutua feto-materna y la falta de contactos previos con antígenos externos. 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 inmaduras. Estas características convirtieron a la sangre de cordón en una fuente de células hematopoyéticas de gran utilidad en trasplantes. También se han observado niveles inferiores en varias citocinas, inmadurez funcional de las células dendríticas y menor actividad celular NK. Estos datos podrían explicar, al menos en parte, la menor intensidad de la enfermedad injerto contra el huésped (EICH) observadas en los trasplantes con SCU y que permiten usar unidades con diferencias en el complejo principal de histocompatibilidad en uno y hasta tres antígenos. Además de que la contaminación viral es menor en las células de cordón umbilical, incluyendo virus de Epstein-Barr y citomegalovirus, los cuales pueden provocar la muerte del paciente trasplantado.

**Expansión *ex vivo* de las células progenitoras hematopoyéticas:** La capacidad de expansión de las células progenitoras hematopoyéticas de la SCU es superior a las de la médula ósea o las de sangre periférica después de movilización. Aunque los resultados más impresionantes se han obtenido con células progenitoras hematopoyéticas 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 el terreno de los trasplantes como en el de la terapia celular. Los estudios han demostrado que el número de células es el factor más importante para el injerto, aunque es aceptable que exista algún grado de desajustes en el HLA.<sup>21</sup>

**Disponibilidad:** La sangre de cordón umbilical constituye una opción para aquellos pacientes que requieren trasplante alogénico, de hecho la búsqueda de unidades compatibles de cordón umbilical pueden efectuarse simultáneamente con el de donantes de médula ósea, favoreciendo una opción con cantidad de progenitores

hematopoyéticos suficientes para proveer un trasplante duradero en aquellos pacientes que no cuentan con familiares compatibles. La facilidad de obtención de las células progenitoras hematopoyéticas de la sangre de cordón umbilical sin riesgo para el donante, es debido al bajo riesgo en su obtención para el recién nacido y su madre, es decir, una ventaja importante dado que tratándose de células progenitoras hematopoyéticas el donador normalmente tendría que estar involucrado con el procedimiento, hasta el punto de someterse a una intervención quirúrgica, además de que es difícil tener actualizado el registro de donadores vivos y tratándose de células de sangre periférica, el paciente tiene que estar en contacto con sesiones de quimioterapia y tratamientos por lo menos de cuatro días antes de que se lleve a cabo la aféresis para poder obtener las células. Por eso la disponibilidad casi inmediata de las unidades de sangre de cordón umbilical ya almacenadas permite la realización de trasplantes evitando retrasos innecesarios. El hecho de que la unidad de sangre se encuentre totalmente estudiada hace que el tiempo de identificación de un donante hasta su trasplante sea menor. Esto le da la ventaja de que las unidades se encuentran disponibles en todo momento ya que están congeladas y listas en bancos de sangre de cordón umbilical para ser descongeladas y utilizadas en trasplante.<sup>20</sup>

Resultados de trasplantes de sangre de cordón umbilical alogénico no relacionado en las enfermedades malignas y no malignas, en adultos y niños, muestran que, en comparación con el trasplante de médula ósea no relacionado, la sangre del cordón tiene varias ventajas, como la disponibilidad inmediata del trasplante, disminución de la EICH y mejores resultados a largo plazo. Resultando en una recuperación similar a largo plazo y una mayor supervivencia.<sup>17</sup>

El reciente aumento en el uso de sangre de cordón umbilical como fuente de células madre para trasplante, es probable que tenga un impacto en selección de unidades en trasplantes en adultos.

A medida que los requisitos de compatibilidad HLA en selección de sangre del cordón umbilical son menos estrictas que en la selección de unidades, puede ser posible encontrar unidades de sangre del cordón umbilical no coincidentes y utilizarla en trasplantes.

La práctica actual en la que la sangre de cordón umbilical es la última opción de trasplante puede cambiar a medida que más resultados estén disponibles, pero se extiende para incluir búsquedas para pacientes adultos simultáneamente con la de sangre de médula para simplificar la selección de donantes.<sup>19</sup>

En definitiva un algoritmo para seleccionar el mejor donante debe incluir toda la información genética disponible, así como tomar en cuenta las características específicas de los donantes. Además, la selección puede diferir en función del paciente, enfermedad, la etapa y el protocolo de trasplante. ¿Cómo seleccionar entre los donantes HLA desiguales al receptor? (es decir, que locus deben ser seleccionado con preferencia) permanece sin respuesta. Diversos estudios informan una mayor importancia relacionada con selección de locus diferentes. Una explicación puede ser que ciertos desajustes son permisivos (y más que estos son frecuentes en determinadas poblaciones). El asesoramiento en la elección entre un antígeno HLA-A,-B,-C o DRB1 donante no compatible debe basarse en estudios locales y la experiencia.<sup>19</sup>

#### **4.2.5 Banco de Sangre de Cordón Umbilical**

Se conoce por estadísticas del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) que la segunda causa de muerte entre niños de 5 a 14 años en México, la constituye el cáncer (entre ellos un porcentaje alto lo ocupan las leucemias) justo por debajo de los accidentes que ocupan el primer lugar de mortalidad tanto en el sexo masculino como en el femenino.

Si bien existen otras fuentes de progenitores hematopoyéticos como son la obtención de médula ósea, o la movilización de células madre hacia la sangre periférica, la posibilidad que tiene un paciente de encontrar donadores relacionados en su familia directa es solo del 25%. El encontrar un donador no emparentado a través de los bancos de médula ósea resulta muchas veces complicado y costoso.

Por esta razón se hizo indispensable, para un país como México, el contar con Bancos de Sangre de Cordón Umbilical (BSCU), que tenga como objetivo primordial, el servir a los centros de trasplante, seleccionando la mejor unidad posible de células progenitoras a través de su propio intermediario o bien a través de redes internacionales, suministrando al mismo tiempo, unidades de calidad, mediante la aplicación de los estándares internacionales, así como a través de la automatización y validación de sus procesos.<sup>14</sup>

Desde el primer trasplante de sangre de cordón umbilical humano, realizado hace 20 años, los bancos de sangre de cordón se han establecido en todo el mundo para la recolección y la crioconservación de sangre de cordón para trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas. La red mundial de bancos de sangre de cordón y

centros de trasplante se ha establecido para un inventario común y el estudio de resultados clínicos. Dicha red Netcord ([www.netcord.org](http://www.netcord.org)) funciona en estrecha colaboración con los bancos para recoger los datos clínicos y el seguimiento de los pacientes trasplantados en o fuera de Europa con unidades NETCORD. Gracias a esta colaboración, desde 1988 hasta octubre de 2008, se han reportado que Eurocord cuenta con 233 Centros Europeos de Trasplante y 197 centros de trasplante de otros países. Un total de 502 trasplantes de sangre de cordón umbilical han reportado haber usado los donantes relacionados (la mayoría de HLA-idéntico entre hermanos donantes), principalmente para los niños con enfermedades malignas y trastornos no malignos y 4373 se han realizado en un entorno trasplante no relacionado a los niños (2901) y adultos (1882). Durante los últimos 3 años, el número de trasplantes no relacionados reportados a Eurocord ha aumentado.<sup>18</sup>

El proceso de un BSCU consta de diferentes técnicas de manipulación del producto, en las cuáles se aplican pruebas analíticas de caracterización y control que garantizan la obtención de unidades de SCU de alta calidad y seguras para su uso posterior en trasplante.

Un banco de sangre de cordón umbilical, de acuerdo a los estándares internacionales NETCORD, es un centro dedicado a la recolección procesamiento, estudio, almacenamiento, selección y liberación de unidades progenitoras hematopoyéticas para uso en trasplante no emparentado.

La sangre de cordón umbilical es extraordinariamente rica en células progenitoras hematopoyéticas por lo cual este tipo de trasplantes son cada vez más frecuentes y se tiene previsto que su empleo se incremente en un 20% anual en los próximos años.

Por otro lado con el incremento de los trasplantes se ha desarrollado también un mayor conocimiento y cultura por parte de la población sobre las bondades que encierra la donación de SCU al momento del nacimiento y es cada vez más frecuente que futuras madres se registren como donadoras de cordón umbilical para su uso en trasplante.

Es fundamental que desde la planeación del BSCU se implemente un sistema de gestión de calidad y se recomienda la acreditación durante el primer año de desarrollo del sistema ISO 900:2008, este tipo de gestión de calidad nos permitirá documentar todas las actividades de BSCU a través de un manual de calidad de procedimientos obligatorios y de procedimientos específicos, además de permitir la realización de auditorías internas y validación de los procesos.

Un laboratorio de histocompatibilidad también debe ser creado desde sus inicios conforme los estándares internacionales, y se recomienda seguir los de la Federación Europea de Inmunogenética para obtener la acreditación EFI. Los requisitos indispensables que se deben cumplir para la acreditación son los siguientes: contar con la acreditación ISO 9001:2008, realizar la estandarización del proceso, que el laboratorio tenga áreas separadas: pre y post amplificación, participar en un control de calidad externo al año previo al menos, validación de procesos y equipos, contar con un programa de mantenimiento preventivo de equipos, realizar la comparación de resultados, documentar y valorar problemas encontrados en el proceso (no conformidades), realizar el control de calidad pretrasplante, hacer monitoreo de áreas e instrumentos, desarrollar la validación de lotes, reactivos y software y contar con un programa de educación continua del personal.<sup>15</sup>

El BSCU debe mantenerse siempre operativo; esto se logra con la solicitud y suministro de unidades a los centros de trasplante y tratando de alcanzar el equilibrio costo-beneficio. La dimensión que alcance un BSCU puede condicionar en gran medida su supervivencia.

Un Banco de Sangre de Cordón Umbilical está conformado por la unidad materna, la unidad de procesamiento y criopreservación, la unidad de búsqueda y gestión de datos y el banco paralelo.

La unidad materna es la única área que se encuentra fuera de las instalaciones de un BSCU. Su función es recolectar la sangre de cordón umbilical, 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 solicitudes de unidades para ser trasplantadas y coordinar la comunicación administrativa entre el banco de cordón y los centros de trasplante.

El banco paralelo se encarga de realizar todos los estudios que marca el procedimiento a las células obtenidas de sangre de cordón umbilical, garantizando su funcionalidad.<sup>17</sup>

## PROCESOS EN EL BANCO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

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 consta de tres fases: la primera referente a la donación del producto, una segunda de manipulación que lleva el producto desde el BSCU al centro de trasplante, y una tercera que incluye el trasplante y seguimiento clínico. Durante este trayecto se deben realizar actuaciones que mantengan las propiedades funcionales del producto original, con garantías de seguridad para el donador y el receptor. De manera complementaria, se deben desarrollar controles que verifiquen la calidad funcional del producto (calidad hematopoyética), y la seguridad del receptor (calidad trasfusional).

El proceso así definido puede dividirse en diferentes técnicas de manipulación del producto, sobre el cual se aplican pruebas analíticas de caracterización y controles de calidad.<sup>20</sup>

**Proceso de donación:** La donación de sangre de cordón umbilical debe 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. En ningún caso podrán facilitarse ni divulgarse informaciones que permitan la identificación del donador ni del receptor. La promoción y publicidad de la donación de cordón se realizará siempre con carácter general y señalando su carácter voluntario, altruista y desinteresado.
- La gratuidad. No se podrá percibir ninguna compensación económica ni de ningún otro tipo por la donación. Las actividades desarrolladas por los bancos de cordón serán sin ánimo de lucro, debiendo haber exclusivamente la compensación de gastos derivados de su actividad. La finalidad será exclusivamente terapéutica, con el propósito de favorecer la salud o las condiciones de vida del receptor, sin perjuicio de las investigaciones que puedan realizarse adicionalmente. En todo caso, la utilización de cordones en función de un proyecto docente o de investigación debe respetar los derechos fundamentales de la persona y los postulados éticos de la investigación biomédica.
- La obtención previa de la firma de un consentimiento informado. La obtención de los progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón umbilical se realizará de manera expresa, libre, consciente y desinteresada. No

podrá obtenerse de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental o cualquier otra causa no puedan otorgar su consentimiento en la forma indicada. El consentimiento debe formalizarse por escrito y ser firmado por el donador y el médico, en presencia de dos testigos. En ningún caso podrá efectuarse la obtención sin la firma previa de este documento.

**Selección de las donadoras y consentimiento informado:** Obtención de un consentimiento informado previo: se debe informar a la madre antes del parto de la recolección de la muestra y obtener su consentimiento por escrito. Para ello, se efectuará una entrevista en la que se entregará una hoja informativa en la que se explican las razones de la extracción y recabará la firma del consentimiento, autorizando la donación.

Criterios de inclusión: se incluirán los partos que:

Tras valoración de la historia obstétrica, en el momento de la llegada a la unidad materna, ésta se considere normal y sin antecedentes de riesgo.

No hay antecedentes médicos maternos o paternos que supongan un riesgo de transmisión de enfermedad congénita o infecciosa grave a través de la SCU.

Se desarrollen de manera compatible con la realización de la recolección.

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

La duración de la gestación sea inferior a 34 semanas.

Haya una rotura prematura de membranas de 12 o más horas antes del parto.

Se manifieste fiebre materna superior a 38°C.

Haya inmunización materno fetal.

Haya anemia materna grave.

Se detecte sufrimiento fetal.

Haya signos de enfermedad infecciosa transmisible.

### **Técnica de obtención de la sangre de cordón umbilical**

**Bolsas de recolección:** Se utilizarán bolsas de hemodonación que contengan anticoagulante apropiado (25 ml de CPD para 150 ml de sangre de cordón) y sistema cerrado de recolección para minimizar el riesgo de contaminación bacteriana.

El equipo de recolección de sangre de cordón umbilical debe contener una bolsa de recolección, dos tubos para pruebas serológicas maternas, tubo para fragmento de cordón y documentos (consentimiento informado, hoja de sala de partos, instructivo para la recolección, foto de bolsa de recolección con indicación de volumen mínimo de

recolección de sangre). El equipo de recolección será almacenado a temperatura ambiente en la unidad materna, en un lugar limpio, preservado de la luz y del calor.

**Técnica de recolección:** La recolección debe llevarse a cabo por el ginecólogo responsable de atender el parto. Tras éste, el cordón umbilical se pinza precozmente (menos de 35 segundos) 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 con yodo. La técnica se efectúa mediante punción de la vena umbilical, con la bolsa de recolección y drenado por gravedad. Se debe tener precaución de agitar la bolsa durante los 2 o 3 min que dura la recolección, para evitar la formación de coágulos.

**Almacenamiento de las bolsas con sangre recolectada:** Las bolsas llenas de sangre de cordón se podrán mantener hasta 24 h a temperatura ambiente o bien en una hielera a 4°C acondicionada para tal fin hasta que sean enviadas al centro de procesamiento. El transporte de la bolsa hasta el centro de procesamiento puede realizarse a temperatura ambiente, pero en un contenedor especial a prueba de golpes, con sistema de protección contra derrames. La criopreservación debe hacerse de preferencia antes de las primeras 24 h desde la recolección o máximo antes de las 40 h.

**Controles a realizar en el momento del parto:** Se deben obtener dos muestras de sangre para el control de las pruebas serológicas maternas: AgsHb, VHC, sífilis, VIH-1+ 2 y Chagas y una muestra hística de cordón umbilical como fuente de DNA.

#### **Proceso de manipulación del producto, incluyendo reducción de volumen, criopreservación y almacenamiento en frío y controles de calidad**

La fase de manipulación comprende todo el proceso desde la recolección de la sangre de cordón hasta la entrega al centro de trasplante. Se deben establecer en todo momento medidas dirigidas a controlar la calidad como son:

- Caracterización del producto: definiendo el contenido celular, el contenido de progenitores hematopoyéticos y sus características trasfusionales, como el grupo sanguíneo y el HLA.
- Estudios de esterilidad después de la realización de manipulaciones.
- Seguimiento de las células blanco durante el proceso.
- Registro del almacenamiento.

- Registro del transporte desde la maternidad al banco y desde el banco al centro de trasplante.

#### **Procesamiento de la muestra:**

**Procedimiento de fraccionamiento:** La SCU se congela tras someterla a procedimientos de fraccionamiento. Es recomendable utilizar procesadores celulares automatizados, que garanticen un proceso siempre uniforme, reproducible y sobre todo que ofrezcan una recuperación celular máxima, con capacidad de reconstitución hematopoyética.

**Controles biológicos prefraccionamiento o posfraccionamiento:** Es indispensable realizar los siguientes estudios: determinación del sistema ABO y Rho, células nucleadas iniciales y totales, volumen de la muestra, determinación de progenitores mediante citometría de flujo (CD34+, CD45 y viabilidad celular), así como cultivos clonogénicos de las muestras, antes de la congelación o facultativamente de las muestras descongeladas de preferencia.

**Procedimiento de congelación:** Se realizarán aquellos procedimientos de congelación que garanticen la viabilidad del material criopreservado.

**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, con certificados que avalen que se encuentran libres de pirógenos. La adición de estas soluciones criopreservantes debe efectuarse en un periodo de 15 min, y con temperatura controlada entre los 2 y 4°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 la velocidad de congelación, el almacenamiento en un mismo tanque y la inmersión total en N<sub>2</sub> líquido. Este tipo de sistemas permite además conservar las muestras en cuarentena, o cuando se encuentran pendientes de validación, sin poner en riesgo el inventario de las unidades validadas.

**Procedimiento de descongelación:** En caso de utilizarse unidades para ser trasplantadas, se procederá a descongelar con un procedimiento de probada eficacia. El uso de procesadores celulares automatizados permite eliminar el DMSO de manera total, conservando una recuperación celular de hasta el 95%.

**Caracterización biológica:**

**Cuantificación celular:** La inclusión de una unidad en un banco de sangre de cordón umbilical para uso no emparentado debe contener un mínimo de  $9 \times 10^8$  células nucleadas totales después de retirar todas las necesarias para los controles.

**Análisis de los progenitores hematopoyéticos:** Se determinarán mediante citometría de flujo y cultivos clonogénicos en metilcelulosa. Facultativamente podrán 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.

**Causas de exclusión de unidades ya criopreservadas:** Se desecharán aquellas unidades de cordón ya congeladas en que resulten las pruebas serológicas maternas, del cordón, o ambas, positivas: VIH, VHB, VHC, sífilis, CMV (IgM o PCR viral positiva) y también aquellas unidades con microbiología positiva.

**Determinación de antígenos de histocompatibilidad:** Las unidades de SCU deben ser estudiadas para antígenos HLA A, B, C y DQ por mediana resolución (2 dígitos) y DRB1 por alta resolución (4 dígitos), por métodos de biología molecular (DNA). Es de vital importancia que el laboratorio que realice los estudios de HLA esté evaluado por un sistema de acreditación externa internacional (EFI o ASHI). Para un banco de cordón, es recomendable que cuente con su propio laboratorio de histocompatibilidad, ya que esto le ayudará a tener un inventario de SCU más actualizado.

**Bancos de muestras de control:** Los BSCU deben disponer de bancos paralelos con muestras de control para la realización de análisis posteriores, si son requeridos, al menos durante cinco años contados a partir de la infusión de la sangre de cordón. Se debe considerar el almacenamiento de DNA fetal, así como una seroteca materna y fetal.

## **SEGUIMIENTO Y CONTROL POSPARTO DE LA MADRE Y DEL RECIÉN NACIDO**

Es aconsejable, más no imprescindible, la realización de un control posparto 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 en la repetición de la prueba serológica materna.

En el caso de disponer de estos datos, deben añadirse al registro de información de la unidad. La no disponibilidad no debe ser motivo de exclusión de la unidad del banco.<sup>20</sup>

## **BÚSQUEDA DE UNIDADES PARA PACIENTES CANDIDATOS A TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS**

Los centros de trasplante que deseen realizar búsquedas en un banco de cordón no emparentado deben demostrar que su institución cuenta con los permisos requeridos para hacer trasplantes. En México, los documentos incluyen: copia de la licencia sanitaria para disposición de órganos y tejidos con fines terapéuticos; copia de licencia sanitaria del banco de sangre con disposición de progenitores hematopoyéticos; copia del aviso de responsable del banco de sangre; CV de los médicos autorizados para realizar trasplantes de CPH y copia de acreditaciones nacionales o internacionales.

El centro de trasplante (a través del médico responsable del paciente) envía al BSCU una solicitud por escrito de búsqueda de unidad en donde debe incluir el nombre completo del paciente, edad, peso, diagnóstico, resumen de historia clínica y resultados de HLA. Los resultados de HLA escaneados del original han de mostrar el lugar y fecha en donde se realizaron, así como la técnica utilizada. El BSCU realiza la búsqueda de unidad para el paciente, dentro de las primeras 24 h y envía al centro de trasplante los resultados de la búsqueda por escrito. El médico responsable del paciente evalúa los resultados de búsqueda y elige una unidad para el trasplante.

El centro de trasplantes solicita por escrito la reserva de la unidad de sangre de cordón que haya sido seleccionada al BSCU. La unidad queda en reserva exclusiva para el paciente, por un tiempo determinado (generalmente un mes). El centro de trasplante avisa al BSCU por escrito la fecha del trasplante.

Una vez que el centro reserve alguna unidad para su paciente, debe enviar una muestra de sangre de éste, para ser tipificada también en el laboratorio de HLA por biología molecular. El BSCU debe realizar el control de calidad pretrasplante que incluye: repetición de pruebas de serología a la unidad seleccionada, recuento celular y viabilidad celular por citometría de flujo, repetición de grupo sanguíneo, determinación de HLA a partir de un fragmento de la unidad, y cultivos clonogénicos.<sup>20</sup>

## **CRITERIOS DE ELECCIÓN DE UNA UNIDAD DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL 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 más rápida y mejor supervivencia es de 3.7 x

10<sup>7</sup>/kg de peso del receptor (mínimo 2 x 10<sup>7</sup> CN/ kg peso para óptimos resultados) y el total de células CD34+ de 2 x 10<sup>5</sup>/kg de peso (mínimo 1.7 x 10<sup>5</sup> CD34+/kg peso).

En caso de haber varias unidades de SCU disponibles, el médico responsable en el centro de trasplante, será quien decida cuál unidad debe ser elegida en función de la enfermedad subyacente del paciente, peso, celularidad de la muestra y compatibilidad HLA según los conocimientos médicos y científicos de ese momento.<sup>20</sup>

### **CONTROL DE CALIDAD PRETRASPLANTE**

Tomando en cuenta todos los aspectos relacionados con el proceso de criopreservación, se hace indispensable establecer un control de calidad de la unidad de sangre de cordón umbilical, después de su criopreservación y antes del trasplante, para poder ofrecer al centro de trasplante una mayor seguridad de que la unidad tiene posibilidades de injerto en el paciente.

Este control de calidad pretrasplante se establece en dos directrices fundamentales: seguridad transfusional y seguridad hematopoyética.

El control de calidad pretrasplante se debe realizar en una muestra representativa de la unidad de sangre de cordón umbilical, pero sin afectar la unidad misma. Por esta razón, se plantea la necesidad de utilizar dos segmentos de antena de la unidad para llevar a cabo los estudios pertinentes.

Los estudios que conforman el control de calidad pretrasplante a realizar en el segmento son:

**Seguridad transfusional:** repetición del grupo ABO, sistema Rho y antígenos leucocíticos humanos (HLA) por biología molecular.

**Seguridad hematopoyética:** repetición de los marcadores CD45, CD34 y viabilidad celular por citometría de flujo; cultivos clonogénicos y determinación de la eficiencia clonogénica, así como viabilidad por la técnica azul de tripano.

Además, se debe repetir la prueba serológica (VIH, VHC, AgsHB, Chagas, CMV, toxoplasma y sífilis) de la sangre de cordón utilizando una muestra de la seroteca inicial.

Con este tipo de estudios, se pretende garantizar que la unidad que se va a enviar a un centro de trasplante para ser infundida se encuentra viable aun después de la descongelación, que no fue afectada su capacidad de auto-regeneración, que la seguridad transfusional ha sido cubierta, es decir, que mantiene su trazabilidad (misma tipificación de HLA y grupo sanguíneo) y que es inocua desde el punto de vista de transmisión de enfermedades para el receptor (marcadores serológicos negativos).

La repetición de las pruebas de histocompatibilidad (HLA) es fundamental, para asegurar que la compatibilidad es adecuada, y resulta de vital importancia realizarse

en el segmento, para tener la seguridad de que la unidad que se va a enviar al centro de trasplante es la misma de la que se tiene toda la información. Un error a este respecto comprometería seriamente el desarrollo del trasplante, del injerto y del paciente.<sup>20</sup>

## **PROCESO DE ENVÍO Y TRASPLANTE**

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 se hará utilizando los medios de transporte que sean precisos en cada caso. El transporte se efectuará en un sistema con capacidad para mantener las características adecuadas del cordón, recomendándose el uso de tanques para transporte en seco de nitrógeno líquido, que permiten mantener la temperatura de congelación de la unidad a  $-196^{\circ}\text{C}$ , mismo que debe acompañarse de:

Etiquetado exterior en el que conste el tipo de tejido de que se trata, procedencia y destino, día y hora de salida, e instrucciones de transporte además de documentación destinada al centro receptor en la que conste la descripción del tejido y solución de preservación, relación de las pruebas efectuadas, instrucciones para la descongelación y utilización, así como código de la unidad de SCU, que permita su seguimiento y que se debe archivar en la historia clínica del receptor.

La infusión de la unidad depende del centro de trasplante y es responsabilidad del equipo médico que atiende al enfermo receptor. Sin embargo, es recomendable que el banco de cordón pueda brindar el servicio de descongelación y acondicionamiento de la unidad a pie de cabecera del paciente. 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: del prendimiento (pruebas de quimerismo), de la enfermedad injerto contra hospedero, de la supervivencia, así como valoración de la enfermedad mínima residual.<sup>20</sup>

El papel del banco de cordón umbilical en el trasplante de progenitores hematopoyéticos resulta una herramienta indispensable, ya que provee de un

inventario de unidades validadas con disponibilidad inmediata para el paciente candidato a trasplante.

Durante el año 2008 se trasplantaron 2,825 unidades provenientes de 112 bancos de cordón registrados en la World Marrow Donor Association. De los trasplantes realizados en 919 casos se utilizó doble cordón lo que demuestra que el uso en adultos es ya un recurso común.<sup>15</sup>

La compatibilidad HLA en los trasplantes realizados fue de 9.9% 6/6, 41.4% 5/6, 46.3% 4/6 y 2.4% 3/6.

Por segundo año consecutivo México ocupó el primer lugar en trasplantes realizados de acuerdo al inventario, con un índice de productividad de 3.256%

En relación a la calidad de las unidades, para el inventario que se utilizará para trasplantes no emparentados, se recomiendan los siguientes criterios de inclusión: que la SCU tenga < de 24 horas extraída para su procesamiento, CNT  $1 \times 10^9$  y CD34+  $> 3 \times 10^6$ .

La capacidad de BSCU para realizar trasplantes puede empezar con un inventario de 50 unidades de SCU. Por tal razón, es recomendable ofrecer el servicio a los centros de trasplante desde el inicio del programa. Los centros de trasplante para poder tener acceso a las unidades de SCU deben cumplir con los siguientes requisitos: presentar copia de la licencia como Centro de Trasplante, Autorizada por el ministerio de Salud y/o Secretaría de Salud, copia de la Licencia del Banco de Sangre y aviso de responsable, presentar copia de todas las acreditaciones del Centro de Trasplante, así como CV de los trasplantólogos autorizados.<sup>15</sup>

## **5. DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **5.1 PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO**

Se dio seguimiento a un caso clínico en donde se presenta una urgencia extrema al faltar el donador relacionado, en el momento que el paciente se encuentra ya acondicionado para recibir el trasplante de CPH y se decide realizar una búsqueda de cordón umbilical para poder salvar la vida del paciente.

#### **Historia Clínica:**

Fecha de Nacimiento: 15 mayo 2005

Originario: Villa Unión, Durango.

Antecedentes familiares:

Paciente masculino, producto de madre de 30 años de edad, sana, y padre de 34 años, sano, no consanguíneos. Tiene una hermana de 7 años sana y documentando antecedentes de 1 hermana fallecida a los 2 meses de edad, por probable Síndrome de Job y 1 hermano fallecido a los 4 meses de edad por sepsis por *Pseudomonas aureginosa*.

El embarazo transcurrió con una evolución normal y se le realiza cesárea electiva a término. El paciente presentó un peso de 3 kg. Obteniendo un APGAR 5/7 y presentando dificultad respiratoria, requiriendo ventilación mecánica durante 48 hrs.

Se diagnosticó al paciente neumonía neonatal, por lo que se le aplicó un tratamiento con Ceftazidima y Amikacina por 11 días. Desde el nacimiento presenta eritrodermia generalizada, con descamación a partir de las 48 hrs. de vida.

El paciente presentó malformaciones en el cierre de la columna vertebral (mielomeningocele). El defecto fue cerrado por cirugía post nacimiento y se le colocó una válvula ventrículo – peritoneal.

Se realizó el diagnóstico de Inmunodeficiencia Combinada Severa, probable síndrome de Omenn, se administró gammaglobulina intravenosa y se refirió al Instituto Nacional de Pediatría (INP).

Es referido al INP en mayo de 2005, a su ingreso se encuentra con diagnóstico de neumonía, dermatosis generalizada, e inmunodeficiencia combinada severa y se le coloca un catéter femoral izquierdo por venodisección. Se reporta una dermatosis generalizada, que respeta palmas y plantas, constituida por áreas eritematosas, con descamación profusa, cabello abundante, sin cejas ni pestañas, lesión en dorso de mano izquierda, úlcera de 2 x 1.5 cm, irregular, superficial.

Al momento de ingresar tomándose en cuenta los signos presentados por el paciente, se toman muestras de sangre y se mandan al laboratorio obteniendo los siguientes resultados:

Resultados Fecha 27/05/2005

Hb (g/dL)	Leucos (WBC/uL)	Linfocitos Totales (#)	Neutrófilos Totales (#)	Eosinófilos (#)	Plaquetas /uL	TP/TTP
17.2	21,100	10,550	8,44	0	369,000	29%/52"

Glucosa (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	IgG, U/mL (240 – 869)	IgM, U/mL (19 – 88)	IgA, U/mL (1.2 – 52)	IgE, U/mL (0 – 87)
87	8.8	0.8	1,150	21.9	< 5	10,854

Se inicia tratamiento con Prednisona 30 mg/kg/día, cefotaxime, dicloxacilina. Continúa tratamiento antibiótico durante 12 días, mostrando mejoría del patrón respiratorio.

Al día 31 de mayo 2005 desaparece la eritrodermia, pero presenta aún descamación superficial. Desaparece la dermatosis, por lo que se disminuye la dosis de esteroide a 20 mg/kg/día. Encontrándose hemodinámica y ventilatoriamente estable, presentando piel sin lesiones y tolerando adecuadamente alimentos por vía oral (fórmula de inicio y leche materna) y con tratamiento de Prednisona 20 mg/kg/día, Fluconazol 6 mg/kg/día, TMP/SMX 5 mg/kg/día, ASA 5 mg/kg/día (por presentar trombocitosis). Y se administra gammaglobulina intravenosa es dos ocasiones (31/Mayo/05 5 grs. y 7/Junio/2005 2.5 grs.).

## 5.2 Opciones de trasplante

Para el tratamiento de la inmunodeficiencia combinada severa (probable síndrome de Omenn) se propone un trasplante de médula ósea, para lo cual se busca donador emparentado y se decide realizar la búsqueda como primera opción, de un donante familiar HLA compatible, encontrando donador familiar (a su hermana de 7 años) 100% compatible en HLA como donante de médula ósea, por lo que se decide empezar el acondicionamiento de la donadora.

### RESULTADOS DE HLA PACIENTE:

A* 10	B*35	DRB1*16	DQB1*05
A* 01	B*35	DRB1*11	DQB1*07

### RESULTADOS DE HLA DONADORA

A* 10	B*35	DRB1*16	DQB1*05
A* 01	B*35	DRB1*11	DQB1*07

Se elige la opción de sangre periférica movilizada para llevar a cabo la recolección de Progenitores Hematopoyéticos. Se coloca a la donante un catéter por punción de vena subclavia, para llevar a cabo este procedimiento.

## Informe de consentimiento del Donador.

Antes del procedimiento para la recolección de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica movilizada, se informó al donante (en este caso por ser menor de edad, a sus padres) por medio de un consentimiento informado el procedimiento y los riesgos que se corren al ser donador.

Protocolo: Administración del fármaco factor estimulante de colonias de granulocito, por vía subcutánea por 5 días previo a la colección para movilizar las células de la médula ósea hacia la sangre periférica y permitir la recolección por aféresis. El efecto esperado por dicho fármaco se documenta al tercer y quinto día de tratamiento por biometrías hemáticas. La aféresis puede realizarse como un procedimiento ambulatorio, sin embargo se requiere una serie de colecciones separadas de aproximadamente 3 – 4 horas cada una. Para la recolección el donante tendrá una línea intravenosa larga colocada en una vena grande de un brazo o sitio similar.

Riesgos: El factor estimulante de colonias puede producir una sensación similar a la del catarro común con dolor muscular o articular, dolor de cabeza fiebre y en menor posibilidad una alergia en la piel. Dichas molestias son controlables y transitorias. Asociado a la recolección de progenitores hematopoyéticos, se da aviso de dolor en el sitio de inserción del catéter intravenoso así como un periodo de inmovilidad, relacionado con la duración del procedimiento. Se explica que el principal riesgo de la colocación de un catéter central es el anestésico, aunque también se toma el riesgo de infecciones y menos frecuentes riesgo de neumotórax y hemotorax.

La extracción y retrasfusión de sangre y la administración de otros líquidos, produce variación del volumen de sangre del paciente, la presión arterial puede caer a niveles muy bajos y el paciente puede presentar un estado de choque; el exceso de líquido vuelto al enfermo puede provocar una edema pulmonar. Por ello los signos vitales del donador son observados estrechamente. La fuerza de centrifugación de la máquina de aféresis puede desencadenar una destrucción de glóbulos rojos del donador (hemolisis) la por lo cual de debe estar vigilando continuamente la sangre que pasa por el procedimiento de plasmaferesis. El uso de anticoagulantes para evitar que la sangre coagule durante el procedimiento puede producir que el calcio disminuya en la sangre, lo que produce temblores musculares, adormecimiento de los labios y manos, convulsiones, arritmia cardiaca y paro cardiaco, por lo que será vigilado estrechamente para detectar cualquier anomalía.

**Acondicionamiento.** Periodo en el que se eliminan las células de la médula ósea para dar espacio al nuevo injerto.

Día de Inicio: 15 Julio de 2005 (Día de ingreso, día -10)

El paciente recibió Difenilhidantoina, un medicamento para evitar convulsiones, iniciándolo un día antes del Bisulfan y continuándolo por 6 días.

- Bisulfan 4 mg/kg/Día. Administrado por cuatro días (del día -9 al día -6).
- Ciclofosfamida 40/mg/kg/día Administrado por dos días (del día -5 al -4).

El seguimiento de los efectos de la quimioterapia fue revelado con datos de la biometría hemática, obteniendo hemoglobina de 13.3, leucocitos totales de 900 y neutrófilos totales de 145.

Una vez firmado el consentimiento de autorización, se inicia el tratamiento, administrando el factor estimulante de colonias de granulocito, para preparar a la donadora para la colocación del catéter. Para la colocación del catéter se anestesia al donador para llevar a cabo el procedimiento.

Después de la regresión anestésica, la donadora regreso a su casa y posteriormente se presenta a media noche al hospital con dolor en el brazo, por tanto se toma radiografía revelando:

- Que el catéter rasgo hasta perforar vena y pleura.
- Hemoneurotorax: colección de sangre y aire en el tórax del lado derecho, lo cual hace que el pulmón se colapse y empiece a acumular sangre.

Se ingresa a la donante a terapia intensiva, colocando un sello de agua (manguera conectada a un secuenciador) para evitar la entrada de aire al pulmón, (haciendo función de presión negativa). Se le administran antibióticos y cuidados hospitalarios. Se presenta el caso al Comité de Ética y se decide que la donadora no debe de ser sometida a mayores riesgos. La donadora egreso después de 7 días de hospitalización.

Al presentarse el incidente y con el receptor en tratamiento de acondicionamiento, se inicia la búsqueda de un donador no emparentado para transplante de medula ósea. La búsqueda concluyo con la opción de una unidad de progenitores hematopoyéticos de SCU en el BSCU CordMX.

La solicitud de búsqueda de la unidad para trasplante fue atendida por el BSCU del CNTS reportándose paciente con edad de 40 días, diagnóstico IDCS probable síndrome de Omenn, con resultados de HLA y requerimiento de una unidad con prioridad de urgencia debido al tratamiento mieloablatoivo al cual se había sometido al paciente.

El BSCU realizó una búsqueda de unidad compatible encontrando solamente una con compatibilidad 3/6 en HLA. Es decir:

**RESULTADOS DE HLA PACIENTE:**

A* 10	<b>B*35</b>	<b>DRB1*16</b>	DQB1*05
A* 01	<b>B*35</b>	DRB1*11	DQB1*07

**RESULTADOS DE HLA UNIDAD DE SCU:**

A* 02	<b>B*35</b>	<b>DRB1*16</b>	DQB1*03
A* 24	<b>B*35</b>	DRB1*04	DQB1*03

La unidad de sangre de cordón umbilical fue entregada lista para el trasplante en menos de 72 horas de haber recibido la noticia del problema con el donador.

Nota: En el año 2005, las disposiciones establecidas por NECORD, aún aceptaban el trasplante de CPH con una incompatibilidad de 3 antígenos, en casos de extrema urgencia, compensados con dosis celular alta.

**6. MATERIAL Y METODOS**

**6.1 Datos de la unidad**

La unidad de SCU provenía del inventario del BSCU del CNTS CordMX.

	Validación del Proceso		
Fecha del Proceso	06/04/2004	Hora del Proceso	08:13
Fecha de Parto	05/04/2004	Hora de Parto	10:58
Tiempo de inicio (h)	21	Peso Inicial (g)	132.5
Peso de la bolsa (g)	33.3	Volumen HES(mL)	22.3
No. GB Inicial (x10 <sup>6</sup> )	10.5	Contaje Inicial GB (x10 <sup>8</sup> )	11.7
No. GB Final (x10 <sup>6</sup> )	39.4	Contaje Final GB (x10 <sup>8</sup> )	9.25 x 10 <sup>8</sup>
% Recuperación	79	CD34+ V Totales cdl/21mL (x10 <sup>6</sup> )	3.7 x 10 <sup>6</sup>

	Grupo Sanguíneo		
Grupo	0	Factor Rh	POSITIVO

## **6.2 Trasplante progenitores hematopoyéticos provenientes de Sangre de Cordón Umbilical**

Para el trasplante la unidad fue liberada el día 26 de Julio del 2005.

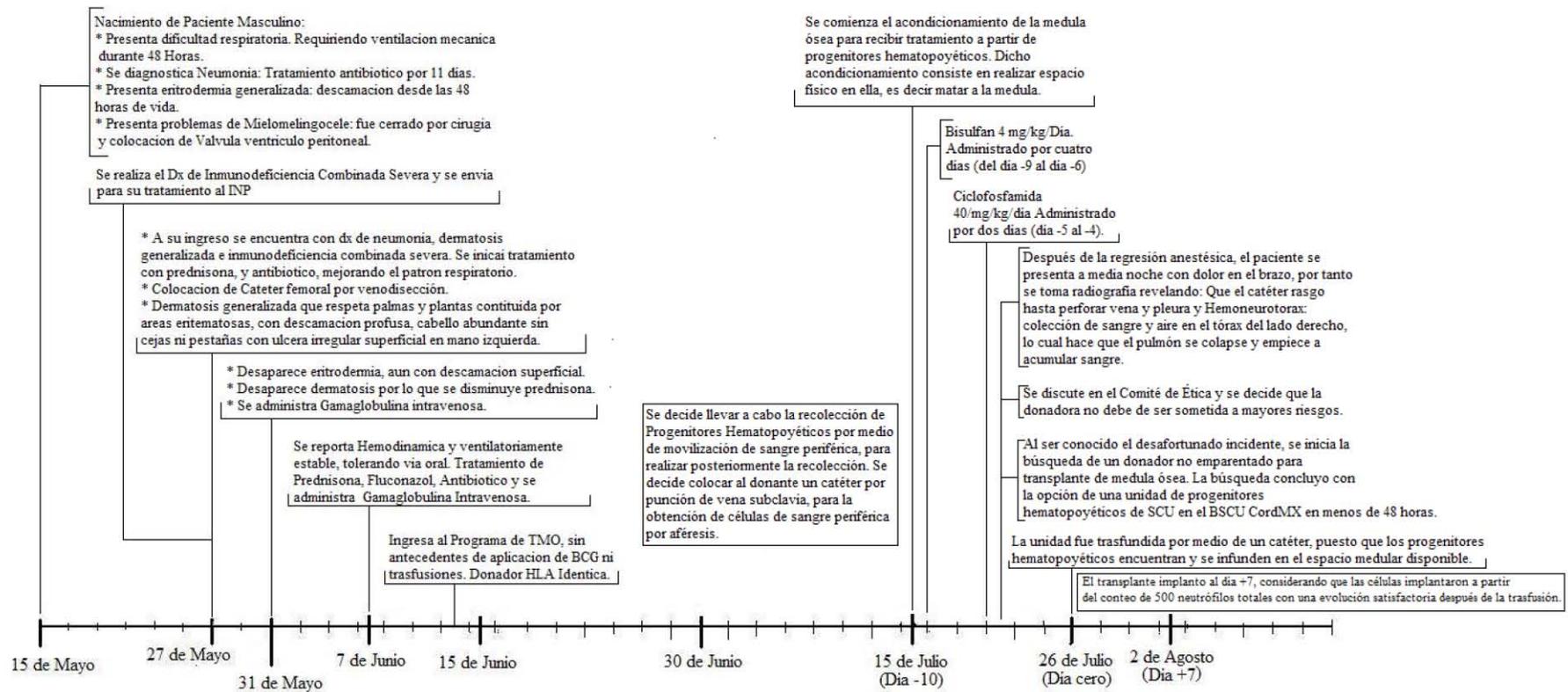
**Día de la infusión: 26 Julio de 2005 (Día cero).**

El trasplante fue llevado a cabo utilizando progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical por vía de catéter central.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Evolución del trasplante**

Grafica de tiempo del trasplante



### **Seguimiento durante el periodo post trasplante:**

Durante su estancia hospitalaria, el paciente fue acondicionado a un aislamiento estricto por medio de la técnica de aislamiento invertido. En esta técnica el paciente es dejado libre en una habitación limpia con filtros de aire para controlar la calidad de aire y que esté libre de agentes patógenos y las personas que entren en contacto con él, serán totalmente protegidas con batas limpias, cubre bocas, cofias, botas y guantes, además de llevar realizar una limpieza de manos antes de entrar a la habitación.

El paciente recibió profilaxis (tratamiento preventivo para evitar infección):

- Ciprofloxacina (antibiótico).
- Aciclovir (Antiviral).
- Anfotericina B de dispersión coloidal (antifungico).

(Día +5). Se inicio un tratamiento con factor estimulante de colonias granulociticas, con una dosis de 10 mg/kg/día, el cual fue administrado durante un periodo de 30 días.

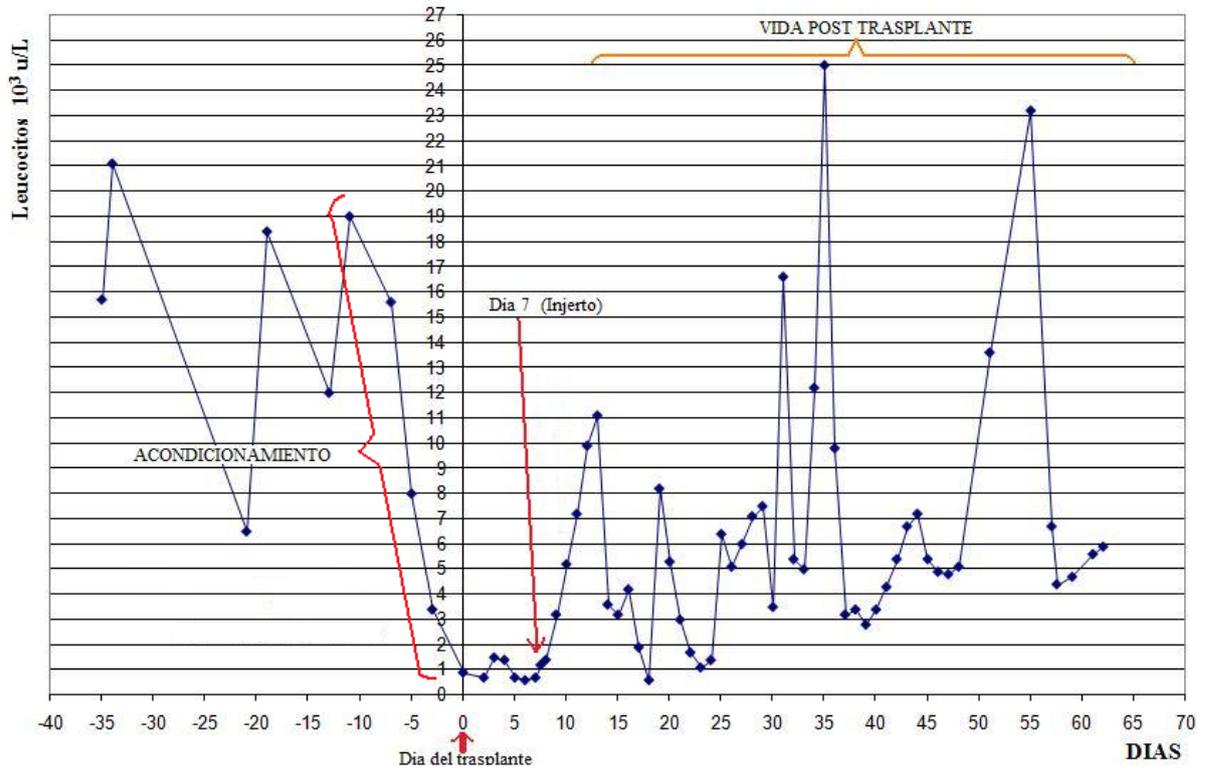
Se aplico un esquema de inmunosupresión con Metrotexate para evitar reacción injerto contra huésped, el cual fue aplicado desde el día -1 con una dosis de 15 mg/m<sup>2</sup>/dosis, y con dosis al día +6, +9 y +11 a una dosis de 10mg/m<sup>2</sup>/dosis. Además de aplicar ciclosporina A desde el día +1 a dosis de 5mg/kg/día y posteriormente manteniendo la dosis de acuerdo a los niveles séricos.

### **7.2 Injerto de trasplante**

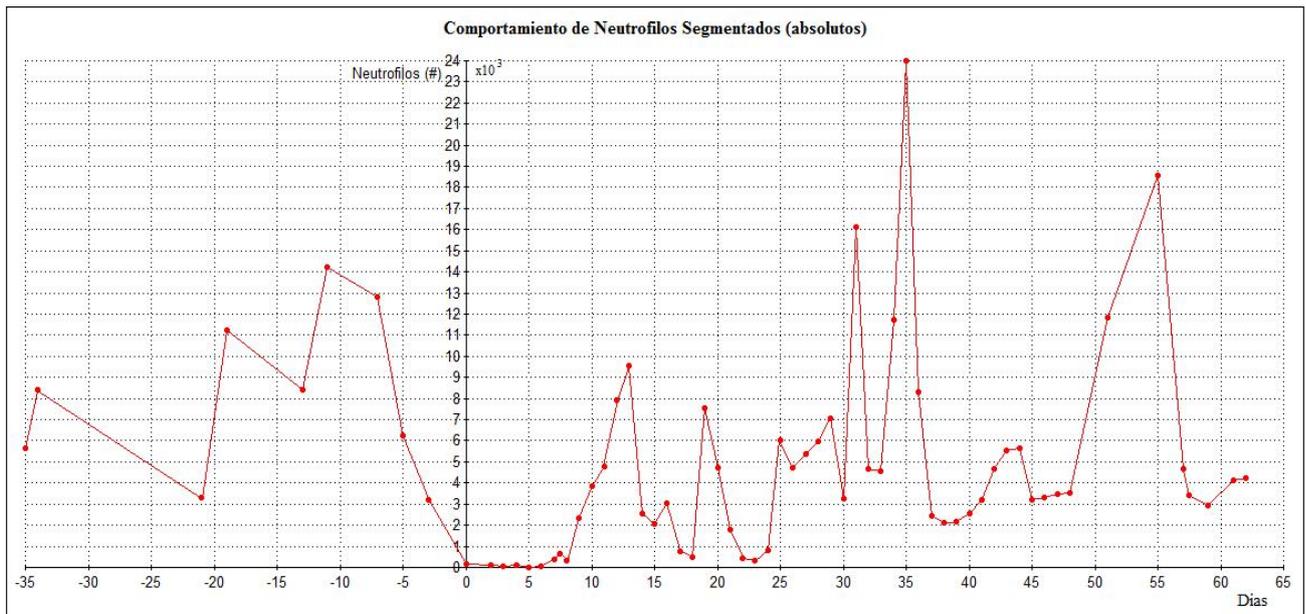
Fecha de implante: (Día +7)

Basándose en los resultados de laboratorio, se realizo un seguimiento del trasplante mostrando en la siguientes graficas el comportamiento de las diferentes líneas celulares, el seguimiento de los leucocitos totales muestra claramente la acción del tratamiento de preparación de la médula ósea y la respuesta del trasplante.

### COMPORTAMIENTO DE LOS GLOBULOS BLANCOS CUENTA TOTAL

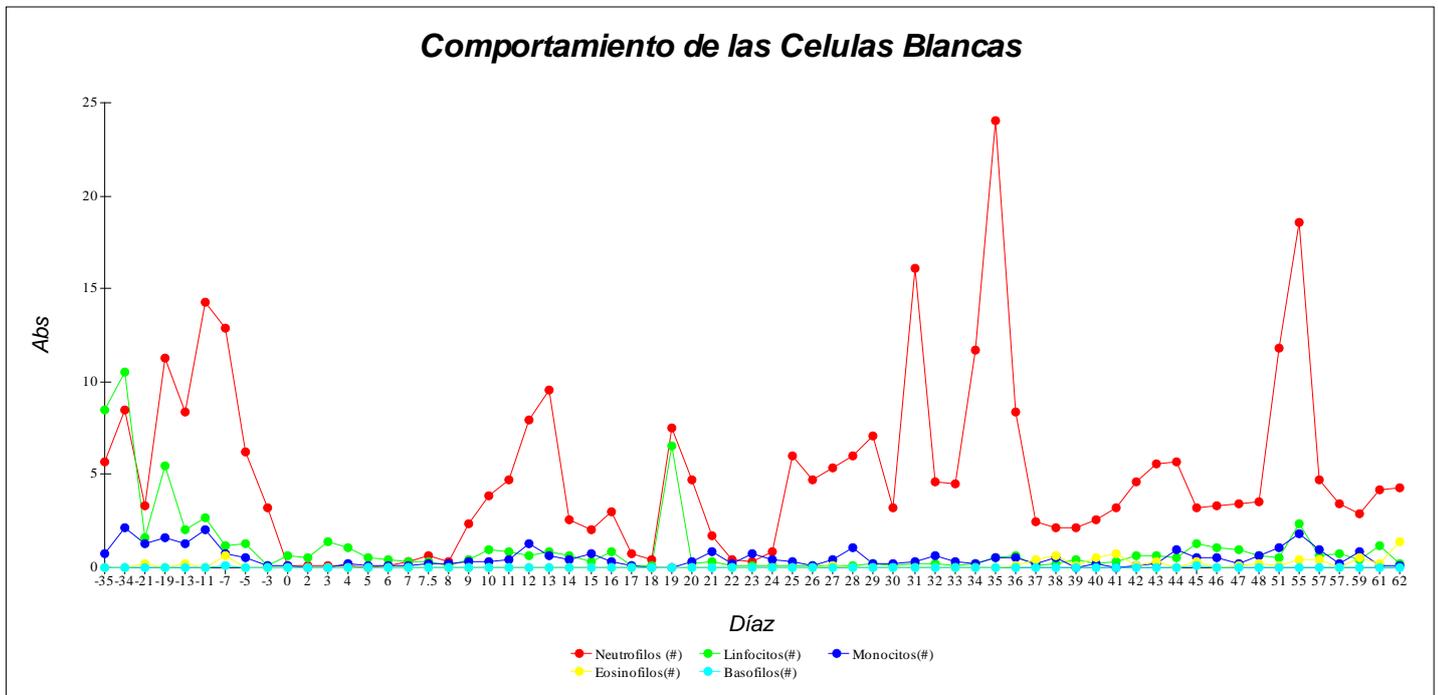
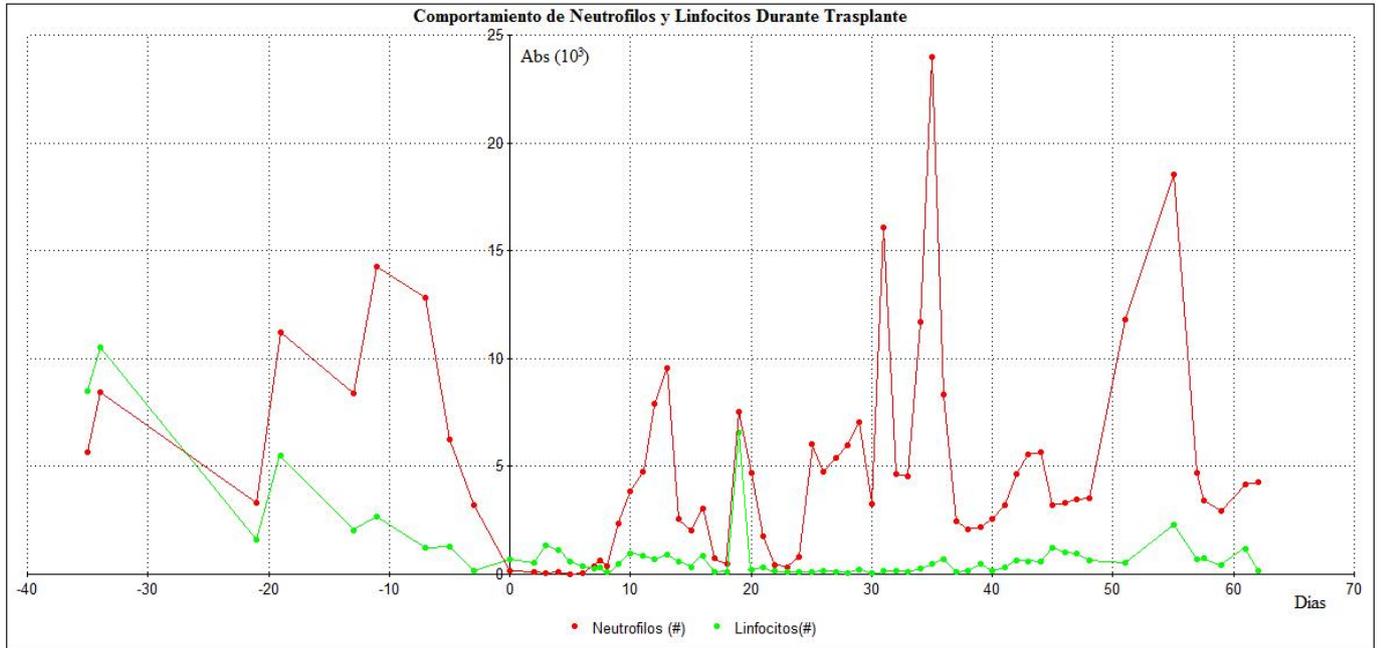


El trasplante implanto al día +7, considerando que las células implantaron a partir del conteo de 500 neutrófilos totales con una evolución satisfactoria después de la transfusión. El paciente egreso en el día +36 para manejo ambulatorio, con buena evolución y datos normales.



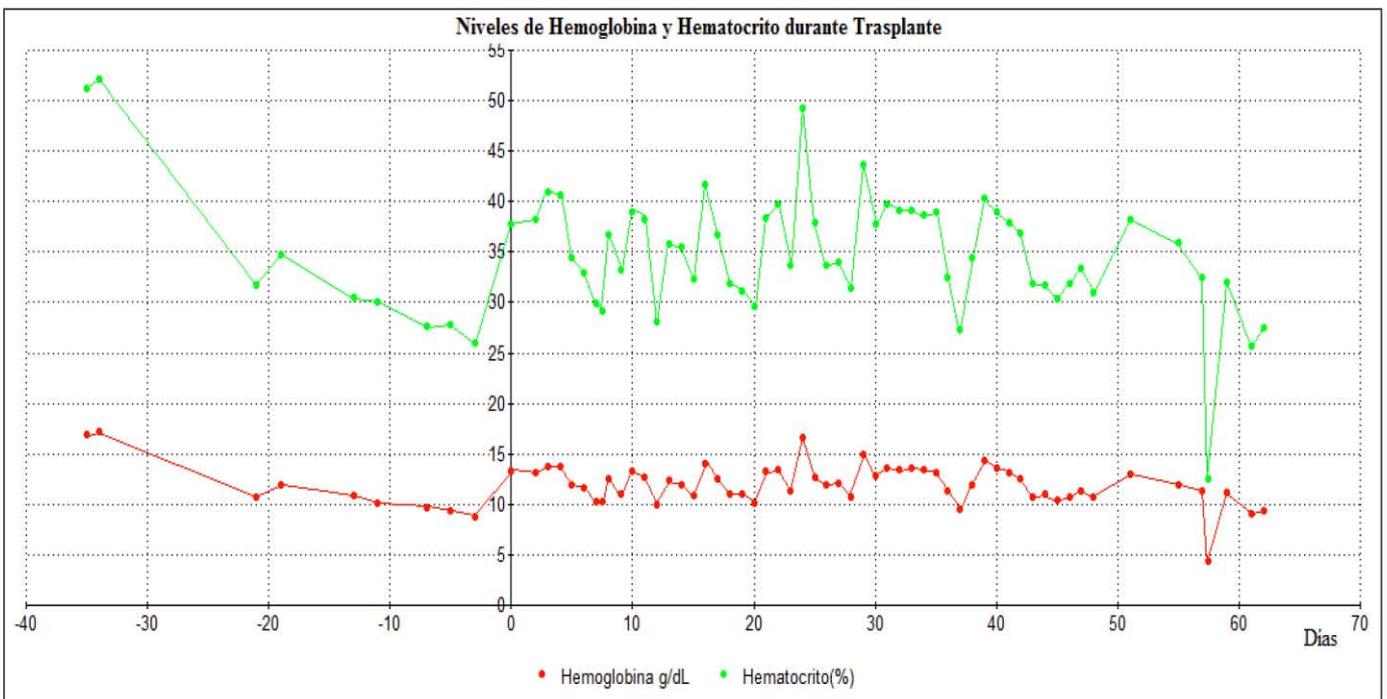
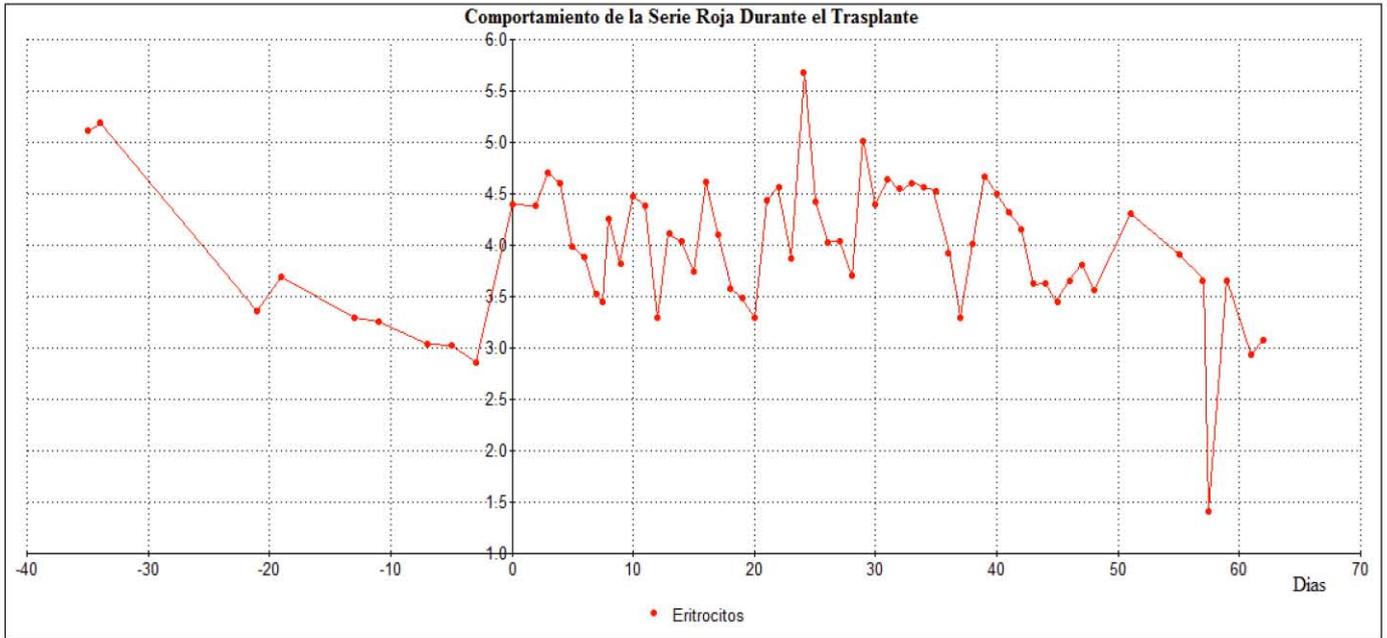
Si bien es importante el conteo de neutrófilos totales, también se realizó el seguimiento de otras líneas celulares, para observar el comportamiento del trasplante, obteniendo los resultados observados en las siguientes graficas.

**Graficas de la serie blanca:**

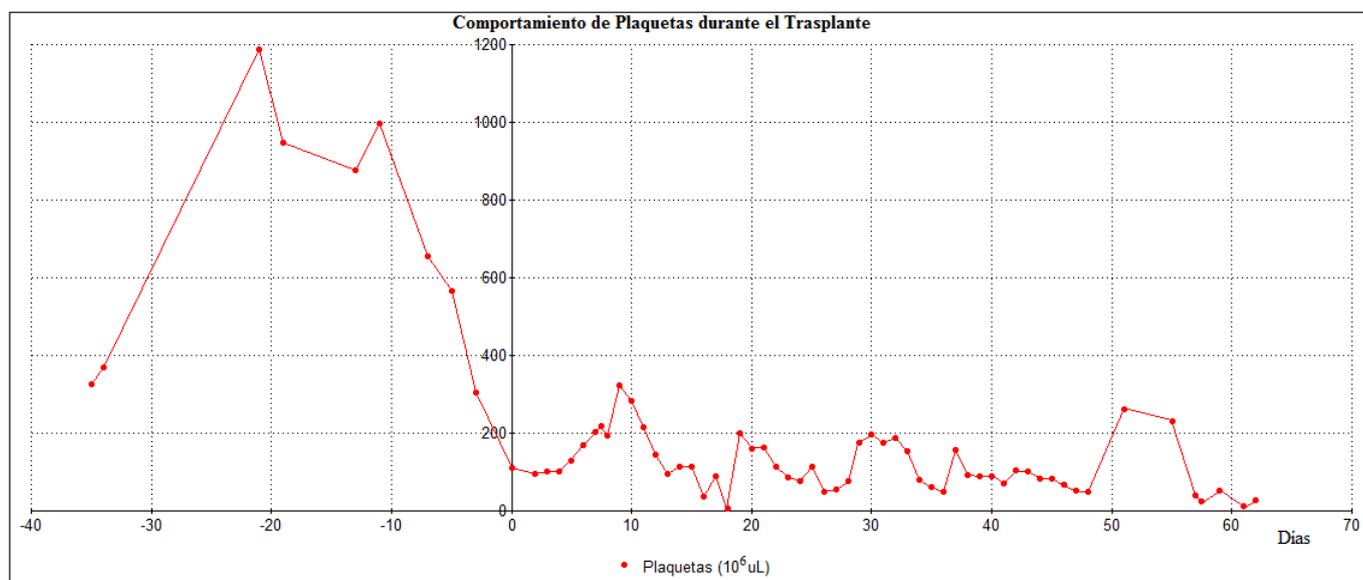


El seguimiento de la serie roja se realizo basándose en la cuenta de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina total, así como el seguimiento del conteo de plaquetas, observando los cambios que tuvo durante el trasplante.

**Graficas de la serie roja:**



### Grafica de plaquetas totales:



### 7.3 Vida Post Trasplante

La evolución del paciente fue transcurrió sin problemas infecciosos y satisfactoriamente hasta el día +75.

En el día +76 el paciente reingreso al hospital con datos de deficiencia respiratoria, con un índice de Silverman Anderson de 6, fiebre de  $39^{\circ}C$ , taquicardia, deficiencia respiratoria, polimneico, hemoglobina de 10.8, leucocitos totales de 10,700, plaquetas 101,000. (Probable infección).

Se toma carga viral, PCR para citomegalivirus y se le da una cobertura antibiótica y antiviral.

El paciente no respondió y presento crisis convulsivas de difícil control, edema cerebral y hemorragia ventricular. Falleciendo al día +90 del trasplante como consecuencia de daño por probable infección viral y daños neurológicos.

La probable infección viral, no se pudo documentar con resultados de laboratorio puesto que los estudios fueron negativos.

## 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El tratamiento inicial al momento de la llegada del paciente al INP, obedece a la respuesta inicial como tratamiento a un proceso infeccioso debido a la cantidad de leucocitos totales (21,00/uL) y a un cuadro de neumonía ya tratado con anterioridad. El primer tratamiento aplicado fue el esquema antibiótico. Aunque en la química aparece un funcionamiento renal normal, los síntomas cutáneos como la eritrodermia y descamación, el historial clínico, datos clínicos como hepatoesplenomegalia y leucocitosis, datos infecciosos como neumonía y una ulceración en mano izquierda y aumento en las inmunoglobulinas IgG (1150, siendo normal de 240 a 869) así mismo de IgE (10,854 siendo normal de 0-87) y el historial familiar, respaldan el diagnóstico de inmunodeficiencia combinada severa. Así, la primera intención es estabilizar al paciente para iniciar tratamiento para control de una IDCS. Se administran supresores de la respuesta inmunitaria, y con el tratamiento antibiótico se logra controlar los síntomas de infección así como cutáneos. Al mantener controlada la reacción cutánea y cubierta con un esquema profiláctico para infecciones, se realiza el protocolo para administrar un Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos.

Dentro del protocolo, en primera instancia se busca un donador emparentado, la segunda opción sería uno no emparentado (medula ósea), y en tercera una unidad de sangre de cordón umbilical. Se localiza a un donador emparentado con HLA 6/6, por lo tanto se realizan los preparativos dando consentimientos informados a los padres de ambos pacientes. Una vez aceptando los padres se realiza el procedimiento y se acondicionan ambos pacientes. El efecto de la quimioterapia se ve reflejado en el comportamiento según los resultados de laboratorio.

Es importante destacar que el trascurso de este tratamiento se ve afectado su donador, lo cual dificulta el estado del paciente, sin una unidad de progenitores hematopoyéticos, las probabilidades de supervivencia disminuían, puesto que al día - 10 (15 de julio) ya había sido acondicionado. Gracias a la infusión de una unidad de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical, solo se tuvo retraso de un día de lo planeado originalmente, sin afectar el estado del paciente, así el paciente tuvo la oportunidad de aumentar las posibilidades de injerto sin mantenerse más tiempo con el esquema mieloblástico acondicionador. Es de destacar que estos resultados sean con una unidad compatible 3/6 ya que la compatibilidad HLA en los trasplantes de sangre de cordón umbilical realizados hasta 2008 fue de 9.9% 6/6, 41.4% 5/6, 46.3% 4/6 y 2.4% 3/6, es decir una incompatibilidad de 3/6 solo era usado

en pocos casos y en este tipo de padecimientos el trasplante, auguraba éxito en 50% de los pacientes.

A pesar de la diferencia de compatibilidad al utilizar una unidad 3/6, la concentración de células progenitoras, si cumplía con lo indicado, en ese año se recomendaba una dosis de 100,000 células CD34+ /kg peso del paciente, el paciente pesaba 3 kg, por lo que la dosis suministrada sobrepasaba por mucho la concentración necesaria de células, lo que dio por resultado un injerto temprano en el receptor al día +7 post-trasplante, a diferencia del día +22 que es el tiempo normal de injerto de una unidad de SCU.

Los progenitores hematopoyéticos fueron emergentes por la urgencia, con paciente acondicionado y donador impedido a última hora.

La recuperación de la cuenta total de leucocitos se ve claramente hasta el día +10, sin embargo el comportamiento de los neutrófilos revela que en el día +7 ya había un conteo de neutrófilos mayor a 500 y mantenido por tres días, confirmando el injerto del trasplante. Posterior al día de injerto (+7) se observa un aumento contante del conteo de los leucocitos totales.

Se administro al paciente una dosis de medicamentos inmunosupresores, que le ayudaran a soportar el trasplante, fueron administrados desde el día -1 y su efecto para evitar una EICH se vieron reflejados en los cambios posteriores al injerto en el conteo de leucocitos totales, ya que no se reportaron infecciones durante y post trasplante; el conteo de ciclosporina en sangre se mantuvo por debajo del nivel permitido como esquema de inmunosupresión, a la par se realizaron estudios constantemente para ver función renal y hepática, reportándose todo en valores normales.

Los Neutrófilos mostraron un comportamiento que obedece la tendencia de la quimioterapia, a partir del día -10 y mostraron una clara recuperación a partir del día +7 (500 neutrófilos) de igual manera que los leucocitos totales obedecen a cambios en sus niveles, sin embargo se mantienen en una tendencia a subir sus mínimos constantemente, a partir del día +25 los neutrófilos no se vuelven a ver en cifras menores a 1000/uL, también obedecen a la tendencia del tratamiento inmunosupresor.

La ciclosporina fue aplicada desde el día +1 y se mantuvieron niveles séricos de esta durante su estancia hospitalaria, además de que el metrotexate seguía teniendo

efecto, pues se aplicó hasta el día +11, por lo cual la carga de inmunosupresores para estos días afectó la recuperación de las cantidades normales y mantuvo al paciente sin EICH.

El comportamiento en general de las extirpes celulares de la serie blanca muestra que los monocitos al entrar al hospital se mantenían en valores de hasta 2000/uL y que al igual que los linfocitos estos fueron disminuyendo. La aplicación de la quimioterapia provocó que los monocitos también disminuyeran hasta valores casi de cero y posterior a la infusión estos casi no se recuperaron durante los primeros días, al igual que los neutrófilos y linfocitos estos mantuvieron algunos signos de recuperación a partir del día +11 sin embargo estos también se mantienen bajos como los linfocitos, no así los neutrófilos, los cuales ya para el día +25 muestran valores normales e incluso rebasan por mucho los valores normales, sin embargo no hay registros de que el paciente haya sufrido alguna infección grave o EICH. Los basófilos y eosinófilos muestran un comportamiento bajo desde el inicio y este no cambia durante tratamiento, estancia hospitalaria y post trasplante se observa una variación en los eosinófilos, pero esto es cuando el paciente ya casi se da de alta, lo cual indica que no causan algún problema en la salud del paciente.

En el caso de los eritrocitos, sus valores postrasplante oscilan entre los 3 y los 5.5, teniendo variaciones en su comportamiento, sin embargo nunca bajando de 3.2 hasta más del día +50. Estas variaciones se pueden explicar debido a la producción de los nuevos eritrocitos, resaltando que la disminución y aumento de estos también es afectada por la producción y disminución de la actividad de los nuevos progenitores hematopoyéticos afectados por el efecto de inmunosupresores, sin embargo por la vida media de los eritrocitos, los circulantes en sangre no permiten que la cantidad de estos disminuya drásticamente como en la serie blanca, de la cual su producción fue destruida y el número en sangre sí disminuye casi hasta valores de cero por la vida media más corta de estos.

El número total de eritrocitos en un principio es alto, considerando que el paciente se observa con  $5 \times 10^6$ /uL y con una hemoglobina de 17mg/dL y en hematocrito de 52%, sin embargo durante la estancia hospitalaria estos valores se ven reducidos hasta tener eritrocitos de  $3.2 \times 10^6$ /uL y con una hemoglobina de 10mg/dL y en hematocrito de 30% siendo estos valores antes del acondicionamiento para trasplante, estos valores aun disminuyen discretamente durante el acondicionamiento para trasplante (a partir

del día -10), sin embargo el día de la trasfusión se observa un aumento notable en los tres valores, y posterior al trasplante estos se mantienen.

Las plaquetas tienen un comportamiento distinto a la serie roja y blanca. Como en las series anteriores las plaquetas disminuyeron con el tratamiento mieloblástico, durante el tiempo de injerto se observa una tendencia a recuperar el número de plaquetas, sin embargo a partir del día +10 estas tienden a disminuir e incluso llegan hasta valores de  $38 \times 10^6/uL$  para volverse a recuperar la producción y mantenerse estable aunque con valores bajos, al igual que las demás series hasta después del día +50.

A partir del día +55 se observa un aumento considerable del número de leucocitos, siendo estos en su mayoría neutrófilos, sin cambio en las otras líneas celulares. Dos días después se observa una disminución de todas las estirpes celulares, leucocitos, serie roja y plaquetas para días después empezar a reportar valores normales de leucocitos y empezar observar de nuevo una normalización de los valores de serie roja y un aumento de plaquetas.

El paciente fue dado de alta hospitalaria el día +36 sin embargo estuvo todo el tiempo bajo observación médica y con su tratamiento con inmunosupresores. A pesar de los diferentes cambios en la producción celular, el paciente se reportó sin problemas infecciosos ni EICH.

## **9. CONCLUSIONES**

Las inmunodeficiencias combinadas severas así como la mayoría de enfermedades hematológicas no pueden tratarse con trasplantes autólogos, puesto que el error genético o deficiencias en el funcionamiento persisten y los pacientes son candidatos a recaídas. El tratamiento a seguir en este tipo de pacientes es un trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico, procedentes de las 3 fuentes: médula ósea, movilización a sangre periférica o sangre de cordón umbilical.

El objetivo de este trabajo fue mostrar la eficiencia que tiene un banco de cordón umbilical, al tener un inventario de unidades de sangre de cordón umbilical, perfectamente estudiadas y validadas para uso en trasplante.

Mientras que la búsqueda de un donador relacionado o no relacionado de médula ósea puede llevar un promedio de 3 a 6 meses, las unidades de cordón umbilical pueden estar disponibles para trasplante entre 24 a 72 horas y son una herramienta

útil en caso de emergencias, en donde la vida de un paciente depende exclusivamente de la existencia de una unidad compatible.

Las directrices para efectuar trasplantes de cordón umbilical han cambiado notablemente en los últimos 7 años, mientras en 2005, fecha en que se realizó este trasplante, se permitían los trasplantes con unidades 3/6 en caso de emergencia, en la actualidad 2012, las directrices van dirigidas a trasplantar unidades con un mínimo de incompatibilidad de 2 antígenos, es decir unidades 4/6, 5/6 o 6/6 y con un compatibilidad total del antígeno DR en alta resolución.

Ahora, una vez superada la búsqueda de unidad compatible HLA con un mínimo de 4/6, se da prioridad a la celularidad, recomendándose dosis mínimas de 170,000 células CD34/ kg de peso del paciente.

En el caso del paciente tratado, la dosis celular utilizada facilitó el injerto, ya que se administro una concentración de  $1.2 \times 10^6$  células CD34/ kg de peso del paciente, lo que aceleró el injerto al día +7.

La sangre de cordón umbilical, representa una opción segura y accesible para el trasplante de progenitores hematopoyéticos en diversas enfermedades hematológicas y onco-hematológicas, lo cual nos lleva a reforzar los programas de donación altruista de cordón umbilical para tener inventarios nacionales disponibles para toda la población mexicana.

## 10. REFERENCIAS

- 1) Abbas A., Lichtman A., **Inmunología Celular y Molecular** Sexta Edición, Elsevier Imprint Grafos S.A., España 2005.
- 2) Garza Velazco, **Bacterias Patógenas**, Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, 2001.
- 3) Shirlyn B. McKenzie, **Hematología Clínica**, Segunda Edición, Ed. Manual Moderno, México D. F. 2000.
- 4) V. Hoffbrand, J.E. Pettit, **Clinical Hematology**, Segunda Edición, Ed. Mosby-Wolfe, España 1998.
- 5) Cortes Matías, Calderón Garcidueñas, **Importancia de un Laboratorio de Histocompatibilidad en el programa de Trasplante de sangre Placentaria y su impacto en la población Mexicana**, U.N.A.M., México D.F. 2006
- 6) David G. Nathan, Stuart H. Oski's, **Hematology of Infancy and Childhood**, Sexta edición, Ed. Saunders Elsevier, Filadelfia 2003, pp. 1013 – 1053.
- 7) Matías Oleastro, Miguel Galicchio, **Inmunodeficiencias Primarias**, Rev. Asociación Argentina de Alergia e Inmunología, [www.alergia.org.ar/.../enfoq5\\_1\\_12\\_2001.pdf](http://www.alergia.org.ar/.../enfoq5_1_12_2001.pdf)
- 8) Jesús Ruiz-Contreras, **Inmunodeficiencias**, Sección Lactantes e Inmunodeficiencias Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid 2003, [www.apcontinuada.com/es/pdf/80000025/H300/](http://www.apcontinuada.com/es/pdf/80000025/H300/)
- 9) Markus Ege, Yunmei Ma, **Omenn syndrome due to ARTEMIS mutations**, Bloodjournal.hematologylibrary.org, The American Society of Hematology, Vol 105, No 11, June 2005, pp. 4179-4186.
- 10) Benjamín Lewin, **Genes VII**, Oxford University, Estados Unidos de América, 2002, Capitulo 24, pp. 741-772
- 11) Enrique Sánchez, Nicolás Jovve, **Genética**, Segunda edición, Ed. Omega S. A., Barcelona, España, 2009 (1989), pp. 370 – 379.
- 12) Lucia Rey, Amed Soliz, Ian Jeffries, **OmennSyndrome: A Case Report of Haplo-identical Bone Marrow Trasplantation In a Premature Infant**, Internacional Pediatrics, Vol19, No 4, 2004 pp 226-229
- 13) Gabriele Rossi, Marco Zecca, **Non-myeloblative stem cell trasplantation for severe combined inmunodeficiency- Omenn syndrome**, Blackwell Publishing Ltd. British Jornual of Hemayology, No 125, 2004, pp. 405-417.

- 14) Calderón Garcidueñas, Fernández Torres, **Programa mexicano de sangre placentaria**, Centro Nacional de la Trasfusión Sanguínea, SS México, LAB-acta Vol. 17, No 4, 2005, pp. 115-118.
- 15) Eva Delia Calderón G., **Un nuevo modelo de banco de sangre de cordón umbilical para América Latina**, Rev. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, Vol. 2 Supl. 1, Mayo – Agosto, 2009, pp. S43-S46.
- 16) Ana C. Liberman, Jimena Druker, **Mecanismos moleculares de acción de algunas drogas inmunosupresoras**, Rev. MEDICINA, Vol. 68, Buenos Aires, 2008, pp. 335-464.
- 17) Eliane Gluckman, **Diez años de trasplante de sangre de cordón umbilical: del laboratorio a la cabecera**, Hospital Saint Louis APHP, Universidad de Paris Institut Universitaire d'He´matologie, Paris, France, 2009 Blackwell Publishing Ltd, British Journal of Haematology, 147, 192–199.
- 18) Eliane Gluckman, **La historia del trasplante de sangre de cordón umbilical**, Bone Marrow Transplantation, Macmillan Publishers (2009) 44, pp. 621–626
- 19) B.E. Shaw, R. Arguello, **El impacto de la determinación del genotipo HLA en la supervivencia tras trasplante de células madre hematopoyéticas de donante no relacionado**, Blackwell Publishing Ltd, British Journal of Haematology, 2010
- 20) Alberto Olaya, Eva Delia Calderón, **Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas en Pediatría Principios Básicos**, Ed. ETM, Cap. 22, **Obtención, Selección y tipificación de Progenitores Hematopoyéticos Obtenidos de Sangre de Cordón umbilical**, Cap. 14, pp. 434-456.
- 21) Karina Duran Santos, **Doble trasplante con Células Progenitoras Hematopoyéticas: Una alternativa en Adultos**, Facultad de Química, México D.F., 2009.
- 22) Departamento de Investigación, Banco de Sangre de Cordón Umbilical Del Centro Nacional de Transfusión Sanguínea, México D.F.
- 23) Laboratorio, Instituto Nacional de Pediatría, México D.F.
- 24) Juan Carlos Jaime Facundo, Elvira Dorticós Belea, **Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas, Tipos, Fuentes e Indicaciones**, Revista Cubana de Hematología, 2004, 20(2).