

## Reconstitución inmunológica en niños receptores de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Pérez-García M,\* Olaya-Vargas A,\* Del Campo-Martínez A,\* Gaytán-Morales F,\*\*  
Mújica-Guzmán F,\*\*\* Juárez-Nicolás F,\*\*\* Mora-Magaña I,\*\*\*\* Augusto Alejandro Villar\*\*\*\*\*

### RESUMEN

**Introducción:** La finalidad del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es implantar un sistema sano en sustitución de uno enfermo. La recuperación total inmunológica es un proceso lento y a menudo incompleto después del trasplante. Si bien la inmunidad innata se reconstituye rápidamente, la inmunidad adaptativa se ve comprometida por varios años, específicamente la linfopoyesis de células B y T. Las células NK alcanzan niveles normales desde las primeras semanas hasta los primeros 100 días. La reconstitución de las células T es lenta, puede tardar más de dos años. La función de las células B se mide con las subclases de anticuerpos. La reconstitución es influenciada por la edad y tipo de trasplante. **Objetivo:** Describir la tendencia de recuperación inmunológica de los pacientes pediátricos postrasplantados de células progenitoras hematopoyéticas durante el periodo 2008-2010. **Material y métodos:** Se incluyeron 31 pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: 12 del género femenino y 19 del género masculino. A 2 de ellos se les realizó trasplante autólogo y a 29 trasplante alogénico. De acuerdo con la fuente, 14 fueron trasplantados a partir de células de cordón umbilical y 17 de sangre periférica. Se realizó el seguimiento de las subpoblaciones por citometría de flujo empleando anticuerpos monoclonales de superficie: CD3, CD4, CD8, CD19 y CD56, durante 3, 6, 9 y 12 meses de seguimiento postrasplante. **Resultados:** Todos los pacientes presentaron una tendencia similar. Se observó que las células con inmunofenotipo CD3 presentan valores normales desde el inicio a expensas de valores adecuados de CD8, ya que los valores de CD4 se mantuvieron bajos durante todo el seguimiento. Existe una diferencia estadísticamente significativa entre el número de CD3 en sangre periférica al compararlo con el cordón umbilical a los 3 meses. El índice CD4/CD8 se presentó con valores adecuados desde el inicio y durante todo el seguimiento, mientras que las células con inmunofenotipo CD19 y CD56 tuvieron valores absolutos bajos en todas las detecciones. **Conclusión:** A partir de los datos obtenidos en la medición de las subpoblaciones de linfocitos se ha evidenciado la reconstitución inmunológica incompleta al año, tanto en la sangre periférica como en el cordón umbilical. Es necesario un mayor número de casos para establecer un patrón definitivo de reconstitución.

**Palabras clave:** Trasplante de células precursoras hematopoyéticas, reconstitución inmunológica en niños.

www.medigraphic.org.mx

\* Médico adscrito a Oncología Médica. Unidad de Trasplantes de Médula Ósea, Instituto Nacional de Pediatría.

\*\* Médico adscrito a Trasplantes de Médula Ósea. Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

\*\*\* Laboratorio de Hemato-Oncología, Instituto Nacional de Pediatría.

\*\*\*\* Servicio de Otorrinolaringología y Foniatría, Instituto Nacional de Pediatría.

\*\*\*\*\* Ex residente de Pediatría del Instituto Nacional de Pediatría.

## ABSTRACT

**Introduction:** The aim of hematopoietic progenitor cell transplants (HPCT) is to implant a healthy system in the place of an unhealthy one. Total immunological recovery is a slow process and often after the transplant remains incomplete. Although the reconstitution of innate immunity is fast, adaptive immunity is seen to be compromised for years, especially in lymphopoiesis of B and T cells. Nk cells reach normal levels from the first weeks until the first 100 days. The reconstitution of T cells is slow and could last more than two years. The function of B cells is measured using its different antibody subclasses. The reconstitution is influenced by age and transplant type. **Objective:** To describe immunological recovery trend of pediatric patients postransplanted with hematopoietic progenitor cells from 2008-2010. **Material and methods:** 31 patients (12 females and 19 males) who were subjected to hematopoietic progenitor cell transplants in bone marrow transplantation unit in Pediatrics National Institute (INP) were recruited for the study. The study is retrospective. Autologous transplant was carried out in 2 of the patients while allogenic transplant was done in 29 of them. According to our data source, 14 of the transplants were with umbilical cord cells and 17 with peripheral blood. Subpopulation post-transplant follow-up was carried out by means of flow cytometry using surface monoclonal antibodies: CD3, CD4, CD8, CD19, and CD56 for 3, 6, 9, and 12 months. **Results:** All the patients showed similar tendency. It was observed that cells with CD3 immunophenotype presented normal values from the beginning at the expense of adequate values of CD8, while the values of CD4 remained low all through the follow-up. There is significant statistical difference between the numbers of CD3 in peripheral blood compared with that of the umbilical cord at 3 months. CD4/CD8 index was found with normal values from the beginning and throughout the follow-up while the absolute values of CD19 and CD56 cell immunophenotypes were found below normal in all the detections. **Conclusion:** From the data obtained in the lymphocyte subpopulations measurement, incomplete immunological reconstitution at one year was observed not only in peripheral drug but also in umbilical cord. However, we suggest that further studies involving higher number of cases is need to establish a definitive reconstitution pattern.

**Key words:** Hematopoietic precursor cell transplants, immunological reconstitution in children.

## ANTECEDENTES

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es una modalidad terapéutica muy eficaz en el tratamiento de un creciente número de enfermedades humanas de elevada mortalidad, y es el tratamiento de elección para muchas de las neoplasias onco-hematológicas y de los trastornos no malignos como: las hemopatías congénitas, aplasias medulares y las inmunodeficiencias primarias.<sup>1-5</sup>

Las células del sistema inmunitario tienen un origen común en una célula progenitora hematopoyética pluripotencial (SC por sus siglas en inglés: *stem cell*), localizada en la médula ósea, a partir de la cual la diferenciación da lugar a los diferentes tipos de células sanguíneas. Estas células hematopoyéticas primarias son la población de células más primitivas a partir de las cuales derivan todas las células sanguíneas circulantes. Se reconocen las SC por sus capacidades de autorrenovación y de diferenciación en diversas células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Éstas pierden la capacidad de autorrenovación y adquieren la capacidad de multiplicarse y diferenciarse, dando lugar, a su vez, a las células precursoras que tienen características específicas de cada línea celular.<sup>6-7</sup>

Por lo tanto, siempre que existan las condiciones adecuadas a partir de un determinado número de SC y

CPH, puede alcanzarse una reconstitución inmunológica y hematológica completa.

Según el **donante**, existen dos modalidades de TCPH: los **autólogos** y los **allogénicos**.

En cuanto a la identidad **HLA**, los TCPH pueden ser:

- a) HLA genotípicamente idéntico (familiar).
- b) HLA fenotípicamente idéntico (familiar o no familiar).
- c) HLA no idéntico.

En los **TCPH autólogos**, el paciente actúa como su propio donante, o sea, sus propias CPH después de ser extraídas, conservadas y tratadas adecuadamente son reinfundidas como procedimientos de rescate permitiendo el empleo previo de tratamientos de quimio y radioterapia muy intensivos.<sup>8</sup>

Los **TCPH allogénicos** son obtenidos de un donante que no es el propio paciente y con la mejor compatibilidad posible en el sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos codificados por los genes del complejo mayor de histocompatibilidad), sea un familiar o no. Al efecto citotóxico del tratamiento previo de quimioterapia o quimiorradioterapia se añade aquí un efecto inmunológico de injerto-contra-tumor.<sup>8</sup>

En el **TCPH singénico**, el donante es un hermano gemelo univitelino y por tanto HLA idéntico.<sup>8</sup>

## INDICACIONES CLÍNICAS DEL TCPH

Las principales indicaciones son las siguientes:

- **Enfermedades neoplásicas** (hematológicas y tumores sólidos) que no sean curables por agentes citotóxicos a dosis tolerables, pero que puedan ser curadas con tratamientos mieloablativos (con alta toxicidad medular). Así, la infusión de CPH reconstruye el sistema hematopoyético, permitiendo la restauración de la actividad hematopoyética a nivel medular. En los TCPH alogénicos existe además un efecto inmunológico antitumoral, contribuyendo a la eliminación de la enfermedad residual mínima. Para estas indicaciones son utilizados tanto los TCPH autólogos como los alogénicos, dependiendo de la enfermedad. El tratamiento previo consiste en quimioterapia con o sin radioterapia a dosis más mieloablativas que lo general.<sup>9,10</sup>
- **Enfermedades no neoplásicas** (aplasias medulares, hemopatías congénitas, inmunodeficiencias y otros errores congénitos) en las que, o ya no existe una médula funcionante, o esta médula no es capaz de producir ciertos elementos celulares sanguíneos en número y función adecuados por defectos genéticos. Para estas indicaciones sólo son utilizados los TCPH alogénicos.<sup>9,10</sup>

## RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA POST TCPH

La reconstitución del sistema inmune es caracterizada por:

La transferencia clínicamente significativa de una respuesta inmune derivada de la respuesta inmune y humoral del donante.

Después de la quimioterapia y radioterapia pretrasplante, toda la hemopoyesis normal del receptor, la respuesta celular y la mayoría de la respuesta humoral son eliminadas.

La respuesta de linfocitos T antígeno-específica es necesaria para el control clínico de infecciones por virus, protozoos y hongos y, a través del control de la producción de anticuerpos específicos por los linfocitos B, los linfocitos T son también necesarios para el control de infecciones bacterianas.<sup>11,12</sup>

El aumento en la producción de anticuerpos postTCPH siguiente a la inmunización del donante y del receptor puede ser debido a la transferencia de:

- a) Linfocitos B inmunes del donante;
- b) Células presentadoras de antígeno del donante antígeno-sensibilizadas, o
- c) Linfocitos T inmunes del donante que cooperan con cualquiera de los linfocitos B antígeno-específicos del donante o del receptor.<sup>13</sup>

La administración rutinaria de inmunoglobulina intravenosa en los receptores de TCPH enmascara la producción de anticuerpos por el receptor precozmente después del TCPH. Los receptores de TCPH son incapaces de producir anticuerpos normales para los antígenos capsulares polisacáridos de las bacterias respiratorias encapsuladas por un periodo prolongado postTCPH. Cuando la terapia sustitutiva cesa, los pacientes pueden desarrollar infecciones piógenas recurrentes si no reciben antibioticoterapia profiláctica. Defectos definibles en la producción de anticuerpos pueden ser detectados en todos los receptores de TCPH.<sup>11-13</sup>

### Linfocitos T CD4+

Los linfocitos T CD4+ o colaboradores representan una subpoblación de las células T y tienen como una de sus principales funciones la regulación de todas las respuestas inmunitarias frente a antígenos proteicos y ayudan, en su calidad de células efectoras, a la eliminación de microorganismos intracelulares. Sus precursores provienen de la médula ósea y después migran y maduran en el timo (el nombre de linfocitos T se refiere a que derivan del timo). Las moléculas de superficie CD4+ son glicoproteínas de cadena ligera de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Se expresan en forma de un monómero en la superficie de las células T periféricas y timocitos. En el hombre también están presentes en monocitos y macrófagos, en menor cantidad. Son aproximadamente dos tercios (50-60%) de las células T circulantes en sangre y en mayor proporción en ganglios linfáticos y menores en el bazo.<sup>14</sup>

Estos linfocitos sólo reconocen antígenos a través del receptor de la célula T (TCR) y en combinación con moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MCH) de clase II. En respuesta a la estimulación antigénica, las células T colaboradoras secretan diversas proteínas llamadas citocinas, cuya función es promover la proliferación y diferenciación de las células T, así como de otras células, entre ellas, las células B y los macrófagos. Las citocinas también atraen y activan a los leucocitos inflamatorios, incluyendo macrófagos y granulocitos, proporcionando importantes conexiones entre la inmunidad específica de las células T y los mecanismos efectoros de la inmunidad natural.<sup>14</sup>

### Linfocitos T CD8+

Los linfocitos T CD8+ o citotóxicos también representan una subpoblación de células T, regulan las funciones de todas las respuestas inmunitarias frente a los antígenos proteicos y ayudan a la eliminación de microorganismos intracelulares.<sup>14</sup>

Son células clave en el periodo inmediato postTCPH, participan en la lisis de las células infectadas por virus y células tumorales. Su maduración y selección también

se realiza en el timo. Las moléculas CD8+ son glicoproteínas transmembranales y también son miembros de la superfamilia de las Ig.

La mayoría de las moléculas CD8+ aparecen como heterodímeros, pero se desconoce la importancia biológica de estas distintas formas. Están presentes en aproximadamente 20-25% en la sangre, 15-20% en los ganglios linfáticos y entre 10-15% en el bazo.<sup>14</sup>

Constituyen un subgrupo de células T que reconocen antígenos a través de TCR y en el contexto de moléculas MCH de clase I, destruyendo las células que expresan antígenos peptídicos asociados a este tipo de complejo mayor de histocompatibilidad. La función biológica esencial de los linfocitos T citotóxicos es la vigilancia de las infecciones virales asociada al reconocimiento y lisis directa de células extrañas del injerto en el rechazo celular agudo y a la inmunovigilancia y destrucción de las células que contienen genes mutados capaces de producir o asociarse a una transformación maligna.<sup>14</sup>

#### Células NK

Las células NK o citotóxicas naturales representan una subpoblación de linfocitos que se encuentran cerca de 10%, tanto en la sangre como en los tejidos linfoides, especialmente en el bazo. Tienen como marcador específico el CD16+ y el CD56+.

Derivan de la médula ósea, pero también pueden derivar de las células doble negativas. Son linfocitos grandes con numerosos gránulos citoplasmáticos, razón por la cual son llamados linfocitos grandes granulares. Son capaces de destruir algunas células tumorales, sobre todo de origen hematopoyético, y células normales infectadas por virus, sin previa estimulación antigénica.<sup>14</sup>

#### Linfocitos B CD19+

Los linfocitos B CD19+ representan la mayoría de las células B; la molécula CD19+ aparece en diversos estadios de diferenciación de células B. Son las únicas células capaces de producir anticuerpos, participando así de la inmunidad humoral. Son encontrados de 10-15% en la sangre, de 20-25% en los ganglios linfáticos y de 40-45% en el bazo. La función fisiológica de los anticuerpos es neutralizar y eliminar el antígeno que ha inducido su formación.<sup>14</sup>

#### Función linfocitaria

La activación o estimulación de los linfocitos «*in vitro*» nos permite valorar lo que regularmente ocurre cuando el antígeno reacciona con linfocitos específicamente sensibilizados en el huésped. La activación linfocitaria mide la capacidad funcional de los linfocitos T o B para proliferar después de la provocación antigénica, y es por lo tanto, una prueba más fiable de inmunocompetencia

que la sola cuenta de los tipos de linfocitos; es comúnmente empleada para evaluar la inmunidad celular en los enfermos en inmunodeficiencias, enfermedades infecciosas o enfermedades neoplásicas.<sup>15</sup>

#### JUSTIFICACIÓN

El conocimiento del impacto de la reconstitución inmunológica permitirá establecer el tiempo en el cual el paciente se encuentra en mayor riesgo de contraer infecciones.

No existen a la fecha, en México, reportes del patrón de reconstitución inmunológica en los pacientes postrasplantados.

Los resultados se utilizarán para disminuir el tiempo de tratamiento profiláctico antibiótico en los pacientes postrasplantados, así como prever la mejoría de la condición clínica de los pacientes en inmunodeficiencias, y en enfermedades oncológicas la posibilidad de enfermedad-injerto-contratumor.

#### OBJETIVOS

Determinar la reconstitución linfocitaria de células T, B y NK en pacientes con enfermedades neoplásicas y no neoplásicas sometidos a trasplante alogénico o autólogo, de sangre periférica o de cordón umbilical.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 31 pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, 12 del género femenino y 19 del género masculino. A 2 de ellos se les realizó trasplante autólogo y a 29 trasplante alogénico. De acuerdo con la fuente 14 fueron trasplantados a partir de células de cordón umbilical y 17 de sangre periférica. Se realizó el seguimiento de las subpoblaciones por citometría de flujo empleando citómetro de flujo Cytomics F500 Beckman Coulter.

**Marcaje con monoclonales de superficie:** Se realizó una toma de muestra de sangre periférica anticoagulada con EDTA durante los 3, 6, 9 y 12 meses de seguimiento postrasplante, empleando para el marcaje anticuerpos monoclonales fluorescentes de superficie: CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PC5; CD19-FITC; CD56-PE. Se utilizaron tres tubos para la citometría de flujo: el primer tubo se empleó como control el cual contenía 100 µL de sangre total, el segundo tubo contenía 100 µL de sangre total más 20 µL del monoclonal CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PC5 y el tercer tubo contenía 100 µL de sangre total más 20 µL de CD19-FITC y 20 µL de CD56-PE. Se incubó durante 30 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente. Posteriormente se hemolizaron las células en el equipo lizante de células TQ-Prep Beckman Coulter TQ-prep para obtener exclusivamente los linfocitos mar-

cados con los anticuerpos monoclonales ya descritos. Se determinó lectura de cada tubo en el citómetro de flujo. Finalmente, se realizó la interpretación y el cálculo de los resultados.

**Población a estudiar:** Se evaluó la reconstitución inmunológica a los 3, 6, 9 y 12 meses postrasplante en 31 niños receptores de trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), autólogo o alogénico, en cualquiera de sus modalidades en la Unidad de Trasplante de Médula Ósea del Instituto Nacional de Pediatría en el periodo comprendido entre enero 2008 a enero 2010, en niños con enfermedades neoplásicas y no neoplásicas que hayan recibido trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en la Unidad de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas del Instituto Nacional de Pediatría.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se efectuó un análisis descriptivo, univariado, en cada uno de los periodos de observación. Posteriormente, se realizó un análisis bivariado entre los parámetros de reconstitución inmunológica y las variables que podían tener algún efecto sobre los mismos. Dichos análisis se efectuaron mediante pruebas no paramétricas. Por otro lado, para estudiar la asociación entre dos variables categóricas se utilizó la  $\chi^2$  de Pearson.

### RESULTADOS

La muestra final se conformó por 29 niños ya que se excluyeron los sometidos a trasplante autólogo, debido al número pequeño, se conformó por los sujetos de estudio que tuvieron las mediciones completas en cada una de las tomas de la muestra a los 3, 6, 9 y 12 meses. En total, el número de niños con por lo menos una muestra obtenida fue de 31. En algunos análisis, el tamaño de la muestra total que se utilizó fue de 31 para tratar de tener el mayor poder estadístico y no desperdiciar las muestras de los niños que fallecieron durante el seguimiento. En el *cuadro I* se describen los sujetos que conformaron la muestra final.

Los niños que fallecieron en el seguimiento fueron 4, los cuales aportaron 7 muestras de sangre en total. El *cuadro II* muestra que los niños que fallecieron son muy similares a los que completaron el seguimiento. Solamente resultó significativa la prueba t de Student en la media del conteo de CD3 y CD8 en los niños que fallecieron. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que no sabemos el estado basal de los conteos de las células en ambos grupos y que estas comparaciones deben de tomarse con cautela. En el análisis bivariado se realizaron cuadros que muestran las mediciones de los grupos de células por mes de seguimiento. Se ajustó por tipo de precursor hematopoyético dado su distribución homogénea de dicha variable, en otras palabras, el tipo de precursor divide

Cuadro I. Características de la población de estudio (n = 31).

| Variables categóricas       | n (%)        |             |                   |            |
|-----------------------------|--------------|-------------|-------------------|------------|
| Estado                      | Fallecido    | Vivo        |                   |            |
|                             | 4 (12.9%)    | 27 (87.09%) |                   |            |
| Sexo                        | Masculino    | Femenino    |                   |            |
|                             | 19 (61.3%)   | 12 (38.7%)  |                   |            |
| Diagnóstico                 | Hematológico | Neoplasia   | Inmunodeficiencia | Metabólico |
|                             | 6 (19.3%)    | 16 (51.6%)  | 6 (19.3%)         | 3 (9.7%)   |
|                             |              |             |                   |            |
|                             |              |             |                   |            |
| Tipo de trasplante          | Autólogo     | Alogénico   |                   |            |
|                             | 2 (6.4%)     | 29 (93.5%)  |                   |            |
| Precursores hematopoyéticos | Sangre       | Cordón      |                   |            |
|                             | periférica   | umbilical   |                   |            |
|                             | 17 (54.8%)   | 14 (45.16%) |                   |            |

Existe una mayor cantidad de sujetos masculinos que de sujetos femeninos. El diagnóstico más común fue el del tipo neoplásico. La edad promedio de los sujetos fue de 6.7 años, con un rango desde el primer año de vida hasta los 17 años de edad. El tipo más común de trasplante fue el alogénico. El tipo de precursor hematopoyético se distribuyó de manera homogénea. Se describen las mediciones de los subtipos de células como media aritmética y desviación estándar.

la muestra total de niños con seguimiento completo en grupos casi iguales. Se observan discretas diferencias en las pruebas de diferencia de medias (t de Student) a lo largo de las mediciones repetidas. Solamente las células CD3 y CD4 alcanzaron diferencia significativa en la medición a los 3 meses entre tipo de precursor. De manera interesante, los niveles de células, independientemente del tipo, se igualan a lo largo de las demás mediciones. Las *figuras 1 a 3* demuestran que, proporcionalmente, las células CD3 son las de mayor cantidad.

Dada la muestra pequeña, se graficaron las medianas (percentil 50) para corroborar los hallazgos en el análisis bivariado, sólo se observa una discreta tendencia de CD3 a aumentar con el tiempo sin ser estadísticamente significativa (p de 0.58). Las *figuras 3 y 4* ajustan por tipo de precursor, en los linfocitos que clínicamente pueden ser más relevantes.

### ANÁLISIS BIVARIADO

Se decidió estratificar por tipo de precursor hematopoyético por la razón de que esta variable parte prácticamente en dos la muestra y esto aumentaría la probabilidad de encontrar diferencias significativas. Se utilizaron pruebas de diferencia de medias de una muestra simple. Los resultados se presentan en el *cuadro II*.



Cuadro II. Valores promedio con su desviación estándar de células CD3, CD4, CD8, CD4/CD8, CD19 y CD56, estratificados por precursor.

| Población de linfocitos | Fuente          | 3 meses           | 6 meses                     | 9 meses       | 12 meses        |
|-------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------------|---------------|-----------------|
| CD3                     | SP <sup>a</sup> | 797.1 ± 524.8     | $\chi$<br>1,221.3 ± 1,004.9 | 975.6 ± 947.3 | 1,097 ± 972.7   |
|                         | CU <sup>b</sup> | 1,734.6 ± 1,845.7 | 1,144.9 ± 812.4             | 1,145.7 ± 750 | 1,138.3 ± 782.1 |
|                         | P               | 0.05              | 0.82                        | 0.58          | 0.89            |
| CD4                     | SP              | 282.4 ± 39.5      | $\chi$<br>460.3 ± 107.7     | 335.9 ± 77.5  | 385.1 ± 81.6    |
|                         | CU              | 534.5 ± 148.6     | 485.9 ± 117.9               | 501.1 ± 108.7 | 527.2 ± 122.6   |
|                         | P               | 0.06              | 0.87                        | 0.21          | 0.32            |
| CD8                     | SP              | 474.9 ± 96.1      | $\chi$<br>727.1 ± 172       | 620.8 ± 160.1 | 682.6 ± 160.6   |
|                         | CU              | 795 ± 198.5       | 602.5 ± 99.9                | 584 ± 97.7    | 576.7 ± 114.4   |
|                         | P               | 0.13              | 0.55                        | 0.85          | 0.61            |
| CD4/CD8                 | SP              | 0.7 ± 0.2         | $\chi$<br>0.1 ± 0.1         | 0.05 ± 0.04   | 0.16 ± 0.08     |
|                         | CU              | 0.5 ± 0.1         | 0.3 ± 0.1                   | 0.32 ± 0.13   | 0.4 ± 0.14      |
|                         | P               | 0.38              | 0.21                        | 0.03          | 0.12            |
| CD19                    | SP              | 9.2 ± 2.8         | $\chi$<br>19.2 ± 4.3        | 17.3 ± 4.2    | 17.9 ± 4.4      |
|                         | CU              | 15 ± 4            | 26.5 ± 4.1                  | 26.1 ± 3.1    | 26.1 ± 2.9      |
|                         | P               | 0.24              | 0.24                        | 0.11          | 0.15            |
| CD56                    | SP              | 8.6 ± 4           | $\chi$<br>12.8 ± 3.8        | 11.9 ± 4.5    | 8.9 ± 4.4       |
|                         | CU              | 16 ± 4.7          | 17.4 ± 3.7                  | 18.5 ± 3.1    | 13.3 ± 2.6      |
|                         | P               | 0.24              | 0.41                        | 0.26          | 0.43            |

Sólo se observa diferencia estadística significativa en la medición a los 3 meses entre los grupos. El número reducido de sujetos no afectó  $\chi$ .

<sup>a</sup> sangre periférica; n= 17 pacientes; <sup>b</sup> cordón umbilical; n = 14 pacientes.

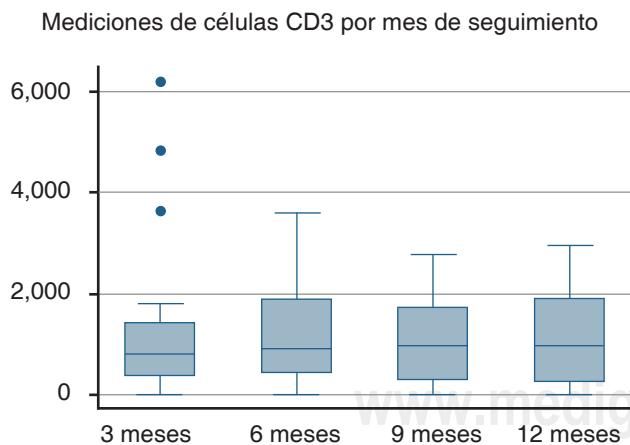


Figura 1. Conteo de células CD3 por mes de seguimiento.

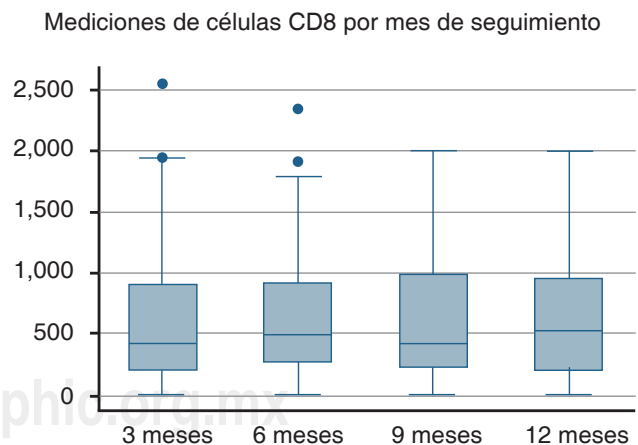
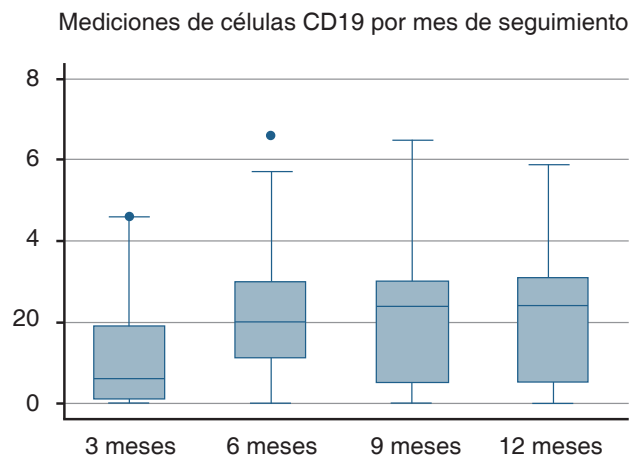


Figura 2. Conteo de células CD8 por mes de seguimiento. Pérez-Olaya et al., 2011.

## DISCUSIÓN

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en pediatría se ha convertido en una potente arma terapéutica para el tratamiento de un cada vez mayor número de padecimientos propios de la infancia, como

enfermedades hematológicas malignas, síndromes de falla medular, síndromes de inmunodeficiencias primarias y enfermedades por atesoramiento, por tan sólo mencionar algunas. El verdadero potencial curativo del trasplante depende hoy en día no tanto de la cantidad



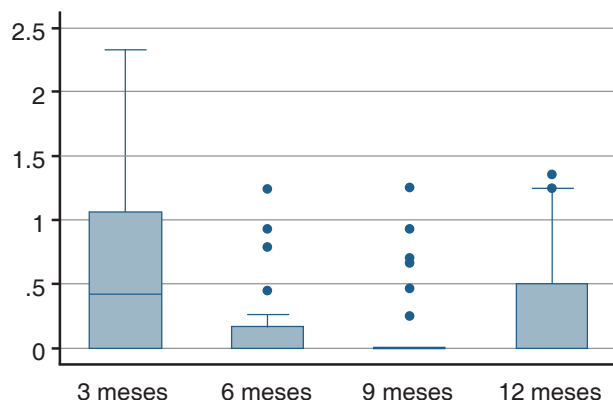
**Figura 3.** Conteo de células CD19 por mes de seguimiento.

de quimioterapia que se administra como parte de los tratamientos de acondicionamiento, sino de una potente respuesta inmunológica fundamentada en la reconstitución tanto humoral como celular del reciente sistema inmunológico implantado. Esta potente reconstitución es la encargada del control de la enfermedad residual mínima, por ejemplo, en el caso de las leucemias. La reconstitución inmunológica se ve influenciada por diferentes factores como lo son la enfermedad de base y su estado al momento del diagnóstico, la fuente de progenitores hematopoyéticos y el desarrollo o no de la enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda o crónica y la terapia inmunosupresora para controlar la EICH.

La mayor parte de los estudios realizados en adultos establecen que la reconstitución celular inicia con una rápida recuperación de los linfocitos NK, la cual se presenta en las primeras cuatro semanas posteriores al trasplante. Esta recuperación es importante, ya que como lo han demostrado diferentes investigadores de estos linfocitos y su capacidad alorreactiva independiente del complejo mayor de histocompatibilidad, depende en gran medida del establecimiento de la enfermedad, injerto contra tumor y mediada por los genes KIR. En nuestra serie no pudimos concluir que esta recuperación se presente del todo, independientemente de la fuente y de otros factores asociados. Sin embargo, el comportamiento clínico de los pacientes fue similar al de otras series, ya que el porcentaje de recaídas para los pacientes con enfermedades hemato-oncológicas no fue mayor del esperado en otros estudios.

En seguida, la recuperación de los linfocitos T1CD3, los cuales pueden aparecer desde el primer mes post-trasplante y alcanzar cifras normales y función normal dentro de los primeros meses, en los linfocitos CD4 su recuperación es lenta en las etapas tempranas; posterior al trasplante se hallan en número reducido y en al-

Mediciones de índice de células CD4/CD8/mL por mes de seguimiento



**Figura 4.** Conteo de linfocitos por subpoblaciones por tiempo de medición y precursor hematopoyético.

gunas ocasiones no se alcanza su cuenta normal, esto es independiente de la fuente de progenitores hematopoyéticos que se hayan utilizado. En nuestra serie se observó su normalización a partir de los 3 meses para la sangre de cordón umbilical y a partir de los 6 meses para el resto de las fuentes. Se resalta la importancia de los linfocitos CD4 por su participación en la síntesis de citocinas y su colaboración con los linfocitos B.

Por el contrario, en los linfocitos CD8 que tienen función citotóxica y un papel importante en la respuesta antiinfecciosa posterior al trasplante, su recuperación fue más temprana, como lo podemos observar. Éstos se presentan prácticamente después del primer mes posterior al trasplante y alcanzan sus valores normales alrededor del 6° mes posterior al mismo. El uso de progenitores de sangre periférica favorece una recuperación más temprana en comparación con otras fuentes.

Dado que los linfocitos CD4 se encuentran disminuidos y los linfocitos CD8 se encuentran incrementados, el cociente CD4/CD8 se encuentra invertido durante casi todo el primer año posterior al trasplante. En la mayor parte de las series reportadas, este comportamiento se observó de manera similar en nuestra serie.

En cuanto a la recuperación de los linfocitos CD19 en niños, se reporta que éstos presentan una recuperación lenta en las etapas tempranas posterior al trasplante, seguida de una progresión entre los 3 y 6 meses, siendo más rápida cuando se utiliza sangre periférica (a partir de los 3 meses) en comparación con la sangre de cordón umbilical (6° mes); la recuperación es muy similar entre la sangre de cordón umbilical y cuando se utilizan fuentes depletadas de linfocitos CD19. Sin embargo, el comportamiento en los adultos es muy diferente, siendo ésta más lenta, llegando a tardar hasta 9 meses y en ocasiones sin lograrse alcanzar por completo,

sobre todo cuando se usa sangre del cordón umbilical. Nuestra serie muestra un comportamiento muy similar reportado por los estudios en adultos, encontrando un comportamiento persistentemente bajo de los linfocitos CD19 en nuestra población después del trasplante, sin que esto variara entre una y otra fuente y la enfermedad de base.

Lo anterior permite determinar el hecho de que la falta de recuperación de estas células no permite determinar anticuerpos, incrementando el riesgo de infecciones virales y la presencia de enfermedad linfoproliferativa asociada a virus de EB, lo que nos ha obligado al uso de gamaglobulina humana posterior al trasplante en la población en riesgo.

Existen otros factores como el grado de enfermedad injerto contra huésped aguda y crónica, así como la terapia asociada, concluyendo que cuando se trata de etapas tempranas de la enfermedad (grados I y II) y la terapéutica de manejo no requiere el uso de más de 2 inmunosupresores a la vez, ésta no afecta la reconstitución inmunológica, situación contraria a las etapas avanzadas de estas complicaciones cuando se requiere del uso de más de 2 inmunosupresores.

### CONCLUSIÓN

A partir de los datos obtenidos en la medición de subpoblaciones de linfocitos no existe una diferencia estadísticamente significativa en el comportamiento de la reconstitución inmunológica en diferentes fuentes de células progenitoras (sangre periférica vs cordón umbilical); la reconstitución inmunológica al año no se completó independientemente de la fuente o enfermedad. La recuperación para CD8 se logra tempranamente en ambas fuentes de células progenitoras, así como el conteo total con CD3; sin embargo, la relación CD4 y CD8 se mantuvo baja durante todo el año de seguimiento.

A diferencia de lo reportado en la mayor parte de las series tanto en niños como en adultos, los linfocitos NK no presentaron una recuperación tan temprana como la esperábamos; sin embargo, esto no se reflejó en la evolución clínica de los pacientes.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Good RA. Early studies in transplantation biology: discovery of two separate systems of immunity. In: Johnson FL, Pochedly C, eds. *Bone marrow transplantation in children*. Raven Press, Ltd. New York. 1990: 1-15.

2. Ortega JJ, Olivé T, Díaz de Heredia C y cols. Trasplante de médula ósea en pediatría. *Annal Esp Pediatr* 1996; 82 (Libro de Actas I): 77-80.
3. Sanders JE. *Bone marrow transplantation in pediatric oncology*. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds). *Principles and practice of pediatric oncology*. Third Edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. 1997: 357-373.
4. Sanders JE. Bone marrow transplantation for pediatric malignancies. *Pediatr Clin North Am* 1997; 44: 1005-1020.
5. Pinkel D. Bone marrow transplantation in children. *J Pediatr* 1993; 122: 331-341.
6. Celada A. Origen de las células del sistema inmunitario. En: *Inmunología Básica*. Celada A. Editorial Labor, S.A. 1994: 43-74.
7. Ramírez M, Civin CA. *Fisiología de hematopoyesis*. En: Madero L, Muñoz A. *Hematología y Oncología Pediátricas*. Ediciones Ergon, S.A. 1997: 1-19.
8. Long GD, Blume KG. *Allogeneic and autologous marrow transplantation*. In: Williams. *Hematology*. Fifth edition. McGraw-Hill, Inc. 1995: 172-194.
9. Robertson KA. *Trasplante de médula ósea*. En: Nelson. *Tratado de Pediatría*. Mc Graw-Hill Interamericana. 15ª Edición. 1997; 132: 750-763.
10. Madero L, Muñoz A, Díaz MA. *Trasplante de progenitores hematopoyéticos en hematooncología pediátrica*. En: Madero L, Muñoz A. *Hematología y Oncología Pediátricas*. Ediciones Ergon, S.A. 1997: 309-344.
11. Parkman R, Weinberg KI. *Immunological reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation*. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, eds. *Hematopoietic Cell Transplantation*. 2ª ed. Malden, MA: Oxford University Press; 1998: 704-711.
12. Lenarsky C. Immune recovery after bone marrow transplantation. *Curr Opin Hematol* 1995; 2: 409-412.
13. Small TN. Immunologic Reconstitution following stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* 1996; 3: 461-465.
14. Otinger HD, Beelen DW, Scheulen B et al. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood* 1996; 88: 2275-2279.
15. Verma U, Mazumder A. Immune reconstitution following bone marrow transplantation. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37: 351-360.

Dirección para correspondencia:

Dr. Alberto Olaya Vargas  
Instituto Nacional de Pediatría.  
Insurgentes Sur 3700-C. Insurgentes Cuicuilco,  
Coyoacán, 16050, México, D.F.  
E-mail: albertoolaya@aol.com  
drolaya1598@aol.com