

Gaceta Médica de México

Volumen
Volume 138

Suplemento
Supplement 1

Marzo-Abril
March-April 2002

Artículo:

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Academia Nacional de Medicina de México, A.C.

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

I. Introducción

María de la Soledad Córdova-Caballero*

La médula ósea está constituida fundamentalmente por una red vascular y un conglomerado celular que lo rodea. La red vascular se compone de sinusoides cuya tenue pared está formada por células reticulares sin membrana basal y con sangre en su interior, este lecho vascular representa la vía de comunicación de la médula ósea con el resto del organismo. El conglomerado celular forma el tejido hematopoyético, cada una de las células que lo integran se dividen, al madurar se diferencian y finalmente pasan a la sangre.

El sistema hematopoyético consta de tres componentes básicos: los factores de crecimiento, las células progenitoras hematopoyéticas (stem cell) (CPH) y el microambiente de la médula ósea.

Los factores de crecimiento conocidos comprenden: Factores estimulantes de colonias, factores de las células progenitoras hematopoyéticas, interleucinas e inhibidores reguladores bidireccionales.

La célula progenitora hematopoyética al ser estimulada se autoreplica, al dividirse da lugar a dos células, una de ellas conserva las características originales y mantiene su potencialidad funcional y de auto-renovación como unidad de reserva de la médula ósea, se estima que 1 de cada 2,000 células de la médula ósea es una célula progenitora hematopoyética. La segunda célula se divide en las diferentes fases de maduración, su diferenciación es de multilíneaje.

El microambiente de la médula ósea está formado por estroma que contiene factores solubles latentes, modificadores y de gran interacción celular.

El trasplante de médula ósea con células progenitoras hematopoyéticas (TMOPCH) representa un procedimiento terapéutico alternativo para diferentes padecimientos hematológicos, metabólicos, inmunológicos y neoplásicos.¹ Parte esencial del TMOPCH son los aspectos éticos: la selección del paciente, la justificación del procedimiento, el riesgo/beneficio, el momento adecuado de realizar el trasplante, considerar otras alternativas terapéuticas y el consentimiento bajo información, entre otros.²

Las CPH se encuentran en la sangre y en número significativo en el cordón umbilical, además de la médula ósea, por lo que, ésta ha dejado de ser la única proveedora. Broxmeyer³ desde la década de los 80 demostró la presencia de CPH en el cordón placentario con la capacidad de regeneración de la hematopoyésis del receptor. En la actualidad las CPH se pueden movilizar y recolectar de la sangre y, al igual que las provenientes de cordón placentario, mantenerse en congelación⁴ en bancos de criopreservación.

Entre las ventajas atribuibles a los bancos de sangre de cordón se mencionan: la fácil y práctica obtención de sangre de la placenta, la estandarización y control de calidad a que son sometidos los procesos de congelación y descongelación, la disponibilidad inmediata; la posibilidad de encontrar grupos HLA poco frecuentes; el bajo riesgo de transmisión de agentes infecciosos; entre otros.⁵ El número de CPH existentes en la sangre de cordón guarda relación con el volumen de la sangre que se obtiene de la placenta, su viabilidad y capacidad funcional están condicionadas al manejo durante los procedimientos de congelación, descongelación y conservación.

En nuestro país, la Secretaría de Salud inauguró en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea el Banco de CPH en agosto de 1994, lo que permitió brindar apoyo a pacientes de instituciones de salud, públicas y privadas que requerían trasplante autólogo o alogénico de médula ósea. De esta forma, se criopreservaron las CPH recolectadas de 20 pacientes programados para trasplante autólogo de médula ósea, 15 de sangre periférica y 5 de médula ósea, además de una recolección de cordón placentario.

Fueron trasplantados diez pacientes, siete de ellos con padecimientos hematológicos malignos, un sarcoma alveolar, una anemia aplásica y una neutropenia autoinmune, con CPH criopreservadas durante 2 a 18 meses, en promedio 5.6 meses, en un período de dos años. Con las CPH de cordón placentario se realizó un

* Académico Titular.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Consejo Mexicano de Hematología.Banco Central de Sangre CMN SigloXXI, Edificio 2 .Av. Cuahutemoc 330, Col.Doctores.CP06720 México DF.

trasplante alogénico en un niño con anemia aplásica, los restantes fueron transplantes autólogos. En nueve de los pacientes se injertaron las CPH, incluyendo las de cordón placentario, con supervivencia de 1.5 a 18 meses después del trasplante. El paciente con sarcoma alveolar falleció el día + 15 del trasplante por un cuadro séptico grave.

Con la certeza de que la tecnología implantada en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea para la criopreservación de las CPH (citoferesis, viabilidad celular, citometría de flujo en la identificación de las células CD34, cultivo celular, congelación, descongelación y conservación) cumplía con la expectativa de la efectividad al demostrarse el injerto y regeneración de la hematopoyesis en los pacientes transplantados, se inició la estandarización de la recolección de las CPH de la sangre placentaria, con el propósito de instalar un banco de sangre de cordón. Para ello, se contó con la colaboración del Hospital de la Mujer, SSA, del Hospital General de México SSA, y del Hospital General de Ticomán del Gobierno del DF.

En la recolección de la sangre se realizaron dos procedimientos. En ambos casos, la edad de las madres, el peso de los niños y el peso de las placenta fueron similares: 26.6 y 24.5 años, 3.226 k y 3.165 k, 560 gr. y 587g, en cambio se observaron diferencias en el volumen de sangre recolectado 42.7ml y 108 ml y en el número de las células CD34: 0.71x10⁶ y 1.77 x 10⁶, respectivamente.

Las unidades de sangre de cordón por el número limitado de CPH (CD34) que contienen, en relación con el volumen de sangre que se recolecta, son utilizadas como una medida terapéutica de preferencia en niños por su bajo peso corporal. A partir del informe en 1988, sobre el éxito del trasplante realizado con CPH de cordón placentario en un niño con anemia de Fanconi⁶ ya es considerable el número de instituciones que llevan a cabo este procedimiento en niños con padecimientos malignos o con patología no maligna.

Estudios realizados en México, demuestran el incremento progresivo de las neoplasias en menores de 15 años de edad, de ellas las leucemias y los linfomas ocupan los primeros lugares con predominio en los niños entre 1 y 4 años de edad.⁷ Por consiguiente, es conveniente obtener un apoyo para la consolidación de un banco de CPH de sangre de cordón en el país, que permita brindar a los niños con estas patologías una medida terapéutica alternativa con la cual se han logrado resultados favorables.

Los investigadores y especialistas involucrados en los trasplantes de médula ósea con CPH procedentes de la sangre, médula ósea o cordón placentario, han demostrado interés por una reglamentación que garantice

la eficiencia de las CPH y asegure la protección tanto del receptor como del donador.

En los Estados Unidos de América, la FDA (Food and Drug Administration) en 1997, emitió una propuesta para reglamentar el uso terapéutico de células y tejidos, la que entró en vigor en enero de 1998.⁸ Con ésta reglamentación, los bancos de sangre de cordón tienen la obligación de:

- Registrarse en la FDA.
- Prevenir la transmisión de los agentes infecciosos.
- Estandarizar los procedimientos.
- Establecer el programa de buenas prácticas de operación.
- Operar con un estricto control de calidad.

México cuenta también con un marco jurídico, en la Reforma de la Ley General de Salud de mayo de 1997, se incorporó el concepto de "células" lo cual permitió agregar varios artículos referentes a las CPH.⁹ Como consecuencia, fue necesario modificar y actualizar el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Disposición de Órganos, Tejidos, Células, productos y Cadáveres de Seres Humanos que se encuentra en proceso de revisión para su aprobación; posteriormente, se iniciará la elaboración de la Norma Oficial Mexicana correspondiente. Ello, permitirá tener mayor congruencia entre los instrumentos jurídicos y los avances científicos y técnicos de los trasplantes de médula ósea con CPH.

Referencias

1. Armitage JO. Bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1994; 330: 827-831.
2. Haley R, Harvath L, Sugarman J. Ethical issues in cord blood banking: summary of a workshop. *Transfusion* 1998;38: 863-867.
3. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:3828-3832.
4. Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE et al. Processing and cryopreservation of placental umbilical cord blood for unrelated marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:3828-3832.
5. Rubinstein P, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998;339:1565-77.
6. Gluckman E, Brxmeyer HE, Auerbach AD et al. Hematopoietic reconstitution cord-blood in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord-blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989;321:1174-1178.
7. Abdullaev FL, Rivera-Luna R, Roitenburg-Belacourtu V, Espinosa-Aguirre J. Pattern of childhood cancer mortality in Mexico. *Arch Med Res* 2000;30:526-531.
8. Food and Drug Administration (FDA). Human tissue intended for transplantation (DocketNo93N-0453). Code of Federal Regulation CFR Title 21 16& 1270.
9. Ley General de Salud (D.O.F. Reforma. México: 7 de mayo de 1997).

II. Criopreservación Celular

Marta Torradadella*

La ciencia de conservar material biológico

La preservación de material biológico a temperaturas criogénicas (criopreservación) consigue detener completamente las reacciones biológicas.

La criobiología es la ciencia que trata el comportamiento de los seres vivos, o de sus constituyentes, a muy bajas temperaturas. La preservación del material biológico tiene por objeto mantenerlo en estado viable para que pueda ser utilizado en trasplantes y pueda llevar a cabo su función fisiológica después del implante.

Gracias a la criobiología, los procesos de criopreservación pueden controlarse de forma que el daño que sufren las células sea mínimo y, por tanto, la recuperación sea máxima. La congelación incontrolada de células puede producir la formación de hielo intracelular o daños osmóticos. Existen diversas formas para evitar estos daños. La más eficiente es la congelación controlada mediante congeladores programables alimentados por nitrógeno líquido.

Empleo de agentes crioprotectores

Los crioprotectores son sustancias que protegen del daño que se pueda producir en las células debido a la congelación. El modo de acción de los crioprotectores es muy complejo; su efecto protector proviene de su habilidad para vincularse al agua lo que evita la formación de cristales de hielo que pueden dañar los organelos intracitoplasmáticos y de su capacidad para reducir los efectos tóxicos de las altas concentraciones de sales y de solutos.

Existen métodos de congelación lenta y rápida. Para aplicar los métodos lentos se requiere un congelador programable mediante un programa informático, capaz de realizar un descenso lento, gradual y muy controlado de la temperatura, hasta alcanzar la deseada de acuerdo al protocolo de ejecución (-80º C ó -120º C, comúnmente). Los crioprotectores más utilizados en estos casos son el dimetilsulfóxido (DMSO) y el glicerol. El 1,2-propanodiol se ha incorporado más recientemente como crioprotector útil para congelar piel.¹

Los métodos rápidos incluyen la “vitrificación” y la congelación ultrarrápida.²

La técnica de vitrificación consiste en la utilización de una solución altamente viscosa que, al ser enfriada, aumenta su viscosidad hasta alcanzar la consistencia de un vidrio; posee la gran ventaja de que no se producen daños celulares causados por la formación de cristales de hielo extracelulares. De todas maneras, no hay que olvidar que las altas concentraciones de crioprotectores necesarias en la vitrificación, son tóxicas para los embriones y por no tanto se aconseja utilizar esta técnica en su congelación.

¿Para qué se utiliza la criopreservación biológica?

El desarrollo de las técnicas de criobiología y criopreservación ha permitido el progreso de muchas terapias de trasplante y de reproducción asistida. Hay una gran variedad de materiales biológicos que se criopreservan para su posterior utilización (Cuadro I).

Todos estos materiales tienen en común que son células individuales o tejidos en los que la administración de crioprotectores y el cambio de temperatura de todo el material, puede hacerse de manera homogénea. Este no es el caso de órganos o miembros completos, porque la variedad de tejidos y tipos celulares que integran los mismos impide la utilización simultánea de la congelación idónea para todos los tipos de células. La situación se complica porque el tamaño de los órganos hace que la transmisión de calor sea más difícil que en células individuales o tejidos. Así, si se congela en condiciones óptimas la parte exterior de un órgano, probablemente dichas condiciones no será las idóneas en el centro del mismo.³

¿Se puede almacenar indefinidamente el material biológico criopreservado?

A la temperatura del nitrógeno líquido a presión atmosférica (-196 ºC), las reacciones bioquímicas se paran y no se producen procesos biológicos que puedan dar lugar a daños o envejecimiento. Se considera que el único factor limitante del tiempo de almacenamiento es la radiación cósmica, que puede llegar al material almacenado y dañar el ADN. El tiempo necesario para que estos daños sean significativos ha sido estimado entre 5.000 y 11.000 años. Es decir, para efectos prácticos, el almacenamiento puede considerarse como indefinido.

* Centro de Transfusión y Banco de Tejidos. Barcelona, España.

Cuadro I.

Médula ósea	Stem cells	Linfocitos	Hematíes	Plaquetas	Córneas
Huesos	Cartílagos	Tendones	Válvulas cardíacas	Arterias y venas	Piel
Paratiroides	Hepatocitos	Semen	Ovocitos	Tejido ovárico	Tráquea
Uretra	Condrocitos	Membrana amniótica	Condrocitos	Islaletes de Langerhans	Embriones

¿Qué se entiende por líquido criogénico?

Aquel cuya temperatura de ebullición a presión atmosférica es inferior a -40 °C.

Los líquidos criogénicos habituales tienen temperaturas muy inferiores a -40 °C. El nitrógeno líquido a presión atmosférica hierve a -196 °C.

¿Dónde se realizan los procedimientos de criopreservación biológica?

En centros sanitarios, como hospitales, centros de transfusión sanguínea, bancos de tejidos o clínicas de reproducción asistida. Estos centros cuentan con personal especializado, habitualmente médicos y biólogos, que son los responsables de la correcta aplicación de las técnicas de criopreservación. Los Bancos de Tejidos suelen tener uno o más congeladores biológicos y varios contenedores criogénicos donde se almacenan las muestras.

¿Es peligrosa la criopreservación?

Las propiedades de los gases criogénicos que los hacen particularmente útiles para esta aplicación hacen también que presenten ciertos riesgos durante su manipulación.⁴

El conocimiento de estos riesgos y una adecuada formación y manipulación los reducen al mínimo, consiguiendo que el número de accidentes graves en España

se mantenga en «0» y el número de accidentes menores sea muy pequeño.

Control de calidad de la criopreservación

El estudio de la viabilidad de las células y tejidos criopreservados mide el daño producido y permite optimizar, si fuera necesario, cualquiera de las fases de preservación.⁵ Los controles de viabilidad permiten medir la integridad física, la actividad metabólica, la actividad mitótica y la función *“in vitro”*, en función de la técnica realizada y el tejido a analizar. Sin embargo, la única prueba de función real es la capacidad de una célula, tejido u órgano, de mantener la vida una vez injertado.

Referencias

1. **Villalba R, Benítez J, et al.** Cryopreservation of human skin with propane-1,2-diol. *Cryobiology*, 1996;33: 525-529.
2. **Pirnay JP, Hanon P, et al.** Ultrarapid freezing: a simple method for skin preservation. European Association of Tissue Banks. 5th International Conference on Tissue Banking; 1996. p. 14.
3. Organ cryopreservation: current status of research carried out in Grenoble. *Prog Urol* 1995; 5:927-31; discussion 931-2. (French).
4. España: Real Decreto 400/1996 sobre aparatos y sistema de protección para uso en atmósferas explosivas. Reglamento Aparatos a Presión, MIE AP-10.
5. **Pegg DE.** Viability assays for preserved cells, tissues, and organs. *Cryobiology*, 26:212-231.19



III. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de sangre del cordón umbilical

Alexander J. Indrikovs*

Cada año alrededor de 1,000 personas no reciben un trasplante de médula ósea por la falta de un donante idóneo para los antígenos HLA. En el año 1980 se iniciaron esfuerzos en los Estados Unidos para establecer un registro de individuos normales quienes estarían dispuestos a donar médula ósea para un paciente no relacionado. Desde entonces, miles de transplantes se han realizado con donantes voluntarios del Programa Internacional de Donantes de Médula Ósea.

Existe un gran número de donantes potenciales que pueden ser abordados y reclutados para incluir sus nombres en el registro. El registro ha sido extendido a numerosos países del mundo, y da esperanza a aquellos individuos que no tienen un donante fácilmente disponible, ya sea un hermano, padre o hijo.

El registro también tiene limitaciones. Los donantes de médula ósea tienen una "vida media," lo cual significa que el donante no puede ser encontrado, que el donante ha desarrollado una enfermedad, o que en el momento que es contactado el donante ya no está interesado. No todos los nombres en el registro representan donantes viables. Otra limitación es que cuando un médico aborda el registro buscando compatibilidad, el proceso toma tiempo. Tiempo para identificar donantes potenciales en el registro, para tomar muestras de sangre adicionales y para confirmar la tipificación HLA. El tiempo promedio desde el inicio hasta el cierre de la búsqueda es de 4 meses. El registro está compuesto mayormente por individuos de antepasados del oeste y norte de Europa, y por lo tanto existen numerosos tipos HLA repetidos. Los grupos minoritarios están subrepresentados en el registro.

Hace unos años, los científicos se dieron cuenta que en un sistema animal de experimentación la sangre de los animales recién nacidos contenía altas concentraciones de células que al ser trasplantadas eran capaces de salvar a los animales luego de haber recibido irradiación mortal. Este trabajo se extendió a la sangre humana del cordón umbilical, y se observó que las células del cordón tenía un potencial substancial para ser usadas en trasplantes.¹

Si la sangre del cordón umbilical contiene suficientes células progenitoras para proveer una reconstitución o un trasplante de médula, entonces obviamente el muestreo de sangre del cordón tiene algunas ventajas: 1) Los trabajos de laboratorio nos dicen que hay un número alto de células madres hematopoyéticas (Hematopoietic Stem

Cells) en la sangre del cordón. Las células madres son definidas como aquellas que son capaces de proveer un injerto medular de larga duración, 2) Otra ventaja es que existe un gran número de donantes potenciales, ya que sólo en los Estados Unidos suceden más de 4 millones de alumbramientos por año, 3) Podría mantenerse un balance étnico dependiendo de la región geográfica donde se colecte la sangre del cordón, 4) Existe muy poco riesgo para el infante donante, y es relativamente fácil colectar las muestras, 5) La sangre del cordón tiene baja prevalencia de algunas enfermedades infecciosas, en particular citomegalovirus, el cual puede producir gran morbilidad y mortalidad en el paciente transplantado, 6) Las células del cordón están disponibles en demanda, ya que se encuentran previamente almacenadas, 7) Por último, existe la sugerencia de una baja intensidad de enfermedad de injerto contra huésped, y por supuesto la posible tolerancia de diferencias en el sistema HLA.

No contamos con marcadores directos de las células madres hematopoyéticas, y nos apoyamos en marcadores indirectos como el antígeno CD34 y los estudios de formación de colonias celulares. Existe una correlación entre el número de células formadoras de colonias granulocíticas/monocíticas y el tiempo de injerto en los trasplantes. La sangre del cordón umbilical contiene un número mayor de células formadoras de colonias mixtas en comparación con la médula ósea. Colocadas en cultivo, estas células producen colonias enormes que pueden ser recultivadas. El potencial de auto-renovación de algunas de estas células de la sangre del cordón es claramente mayor que el del mismo tipo de células de la médula ósea. La concentración de células formadoras de colonias (CFCs) en la sangre del cordón es extremadamente alta, en ocasiones promediando 3,000 CFCs por mililitro. Este número es tan alto como el que encontramos en la médula ósea, y mucho más alto que el de sangre periférica adulta no movilizada.

El primer trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de sangre del cordón (CPHSC) se realizó en un niño con Anemia de Fanconi utilizando sangre del cordón umbilical de su hermana. Basados en el éxito de este trasplante, y en la duración del injerto, otras instituciones empezaron a investigar la posibilidad de usar CPHSC para trasplantar pacientes relacionados y no-relacionados con el donante.²

* Director del Banco de Sangre. Universidad de Texas.Galveston, Texas.

A la sangre del cordón umbilical se le hacen pruebas similares a las de las donaciones de sangre voluntarias, con excepción de los cultivos bacterianos y las pruebas para citomegalovirus que se hacen rutinariamente a la sangre del cordón.

La colección de la sangre del cordón es muy sencilla y se han descrito varios métodos. Uno de estos métodos consiste en que después de un parto vaginal o cesárea el cordón umbilical se pinza doblemente y se corta lo más pronto posible. Luego de la expulsión de la placenta se colecta la sangre por un método cerrado, previa desinfección del cordón, utilizando una bolsa de colección de sangre modificada con una aguja calibre 16, y 20 mililitros de CPD como anticoagulante. El volumen de sangre colectado varía de 50-100 mililitros. La sangre del cordón se puede congelar sin manipulación. Sin embargo, la tendencia actual es purificar las células mononucleadas y así reducir el volumen de la muestra antes de congelarla. Similar a las colecciones de sangre periférica, para la crioprotección se utilizan concentraciones de DMSO del 5 al 10%, y se congelan las células en un congelador computarizado de ritmo controlado. El almacenaje permanente puede hacerse en congeladores mecánicos o en congeladores de nitrógeno líquido.

El contenido leucocitario de las preparaciones de sangre del cordón promedia unos 13,000 glóbulos blancos por microlitro. El contenido de CPHs es de 30 por microlitro (30,000 por mililitro). Una de las diferencias más importantes es en la distribución del tipo de células progenitoras en sangre del cordón comparado con la médula ósea adulta. Células progenitoras son aquellas que crecen en cultivo cuando se agregan factores de crecimiento (citocinas) apropiados, y son enumeradas como colonias. Cuando se cultivan células de sangre del cordón, alrededor del 60% de las colonias son del tipo granulocítica/monocítica, y un número menor de colonias son del tipo eritrocítica. El número de colonias del tipo mixto, las cuales contienen hasta 5 tipos de células diferentes, es de alrededor de 25% de todas las colonias en sangre del cordón. En la médula ósea adulta solo alrededor del 2%-3% de todas las células formadoras de colonias son del tipo mixto.

Con las técnicas modernas de purificación de sangre del cordón, la pérdida de linfocitos y CPHs es mínima. La evidencia colectada por algunos de los bancos de sangre del cordón apoya la remoción del DMSO después de la descongelación y antes de la infusión. Si el DMSO no es removido, aún por un corto periodo de tiempo, se produce casi un 40% de pérdida del número de CPHs detectables comparado con los conteos pre-congelación. Existe evidencia que la recuperación de los neutrófilos después de un trasplante de sangre del cordón es más rápida cuando la técnica de descongelación incluye la remoción del DMSO.³

En uno de los programas de colección y almacenamiento de sangre del cordón en los Estados Unidos, el tiempo medio desde la búsqueda inicial hasta el trasplante es de 92 días, con un rango tan corto como 10 días. Este tiempo tiende a reducirse a medida que el inventario de sangre del cordón aumenta. Debido a que el tiempo entre diagnóstico y tratamiento puede ser un factor muy importante en la salud a largo plazo y la sobrevida del paciente, la rápida disponibilidad de la sangre del cordón es muy deseable. El número de trasplantes de sangre del cordón ha tenido un crecimiento impresionante en los últimos 10 años. En general, las categorías de enfermedades para las cuales se han usado trasplantes de sangre del cordón son las mismas que aquellas donde se han usado trasplantes de médula ósea. La gran mayoría de los pacientes tienen enfermedades malignas de varios tipos, principalmente leucemias. El tiempo para obtener un conteo absoluto de neutrófilos es similar a los trasplantes de médula ósea. Sin embargo, por razones no totalmente claras, el tiempo para la recuperación del conteo plaquetario es más prolongado.

Un gran número de los pacientes trasplantados con sangre del cordón no son completamente idénticos para los antígenos HLA. Casi un 85% de los pacientes tienen 1 ó 2 antígenos dispares, y el injerto se produce en más del 90% de este grupo. Cuando existen 3 ó 4 antígenos dispares el porcentaje de injerto disminuye; pero aún es sorprendentemente alto para el grado de disparidad. La sobrevida libre de eventos está relacionada con la dosis de células nucleadas del trasplante. Mientras más baja la dosis, menor es la sobrevida libre de eventos. La mayoría de los investigadores prefieren trasplantar alrededor de 2×10^7 células nucleadas por kilogramo de peso del paciente. Esta práctica está limitada por el número de células del injerto y por el peso del paciente. En trasplantes de médula ósea y células progenitoras de sangre periférica existe una correlación entre el grado de disparidad HLA, la incidencia y el grado de severidad de la enfermedad de injerto contra huésped. A mayor disparidad la incidencia y grado de severidad de rechazo es mayor. En el escenario de trasplantes de sangre del cordón, aproximadamente un 25% de los pacientes sin desigualdad HLA presentan enfermedad aguda de injerto contra huésped grado 2-4. En los pacientes con desigualdad de antígenos de clase I, II, o ambos, un 50-60% presentan enfermedad aguda de injerto contra huésped grado 2-4. La enfermedad crónica de injerto contra huésped rara vez es una complicación importante de larga duración en los pacientes trasplantados con sangre del cordón, opuesto a lo que ocurre en casos de trasplantes de médula ósea y sangre periférica.^{4,5}

Aún quedan preguntas por contestar. ¿Pueden los pacientes adultos ser trasplantados/injertados confiablemente con sangre del cordón? ¿Podemos trasplantar

a un paciente con más de un preparado de sangre del cordón? ¿Podemos transmitir enfermedades infecciosas o genéticas con el trasplante de sangre del cordón? ¿Qué tiempo podemos mantener congelada la sangre del cordón? ¿Tienen las células de sangre del cordón el efecto de injerto-contra-leucemia?

También nos quedan problemas y promesas futuras. ¿Pueden las muestras de sangre del cordón ser colectadas, procesadas, almacenadas, y distribuidas a bajo costo? ¿Podremos en un futuro expandir confiablemente en el laboratorio las células de la sangre del cordón? ¿Son las células de sangre del cordón mejores que las células madres adultas para la terapia genética? ¿Cuáles serán las futuras regulaciones de la industria? ¿Cómo vamos a lidiar con los problemas ético-legales en relación a la sangre del cordón?

Durante la última década, la sangre del cordón umbilical ha sido usada para tratar un número de enfermedades que resultan de la disfunción de la médula ósea. A pesar de que muchos de estos usos han sido experimentales, los resultados de las investigaciones clínicas y de laboratorio sugieren que la sociedad cien-

tífica ha empezado a conocer la superficie del potencial terapéutico de la sangre del cordón. En el futuro, un amplio espectro de tratamientos para curar enfermedades y salvar vidas, muchos aún por descubrirse, podrían involucrar el uso de sangre del cordón.

Referencias

1. Rubinstein P, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998;339:1565-77.
2. Cairo SM, et al. Placental and/or umbilical cord blood: an alternative source of haematopoietic stem cells for transplantation. *Blood* 1997;90:4665-78.
3. Kögl G, et al. The effect of different thawing methods, growth factor combinations and media on the *ex vivo* expansion of umbilical cord blood primitive and committed progenitors. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:233-41.
4. Rubinstein P, et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10119-22.
5. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood haematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2000;28:1197-1205.

IV. Enfermedad injerto en contra del hospedero crónica, opciones terapéuticas

Enrique Gómez-Morales*

Introducción

La enfermedad injerto en contra del hospedero crónica (EICHc),^{1,2} es una complicación del trasplante alogénico que ocurre en el 60 a 80% de los enfermos que tienen una supervivencia prolongada, es de origen autoinmunitario y suele ocasionar una mortalidad del 25% asociada a infección. Se presenta en todas las modalidades de trasplante alogénico, incluidos los que reciben células de cordón placentario o bien regímenes de condicionamiento no mieloablutivo.

Los factores de riesgo para EICHc, incluyen: a) enfermos que desarrollaron EICH aguda (EICHA) de grado II a IV con una frecuencia > al 60%, el 45% para aquellos con EICHA grado I y < del 30% para quienes no tuvieron EICHA. b) diferencia en el sistema de histocompatibilidad donador-receptor, predomina en los

que tienen diferencias en clase II (DR). c) distinto sexo donador-receptor, mayor riesgo para receptores varones con donador femenino. d) la edad del receptor, a mayor edad mayor riesgo. e) empleo de médula ósea no manipulada en sus células T y f) el controversial origen celular, mayor riesgo para aquellos que reciben sangre periférica movilizada.

Fisiopatología

Los mecanismos fisiopatológicos involucrados son, un ataque inmune mediado por células T del donador, con predominio de Células TH2, consistente con la actividad clínica asociada con aumento en la IL5 con eosinofilia, IL 4 con gamopatía, así es expresión de un síndrome de dis regulación inmune resultando en inmunodeficiencia y

*Transplante de Células hematopoyéticas. Servicio de Hematología. Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI. IMSS.

autoinmunidad. La mayoría de los pacientes tienen evidencia de dis regulación de células B, con una alta prevalencia de autoanticuerpos a varias superficies celulares y antígenos intracelulares, aunque su papel en la patogenia es poco claro.

Presentación clínica

Es amplia y afecta todos los órganos simulando un padecimiento autoinmunitario vascular sistémico incluye piel, boca, hígado, ojos, intestino, esófago, pulmón. Existe en forma secundaria a EICHa, quiescente después de la resolución de forma aguda y crónica en su inicio. Puede ser localizada o extensa, y ser a su vez leve, moderada o grave, de riesgo estándar o de alto riesgo, cuando se asocia con trombocitopenia < 100 x 10⁹/L, el riesgo de infección a un año, es de 65% y de 81%, respectivamente al grupo de riesgo.

¿Cuál es la mejor opción terapéutica?

Definida y etapificada la EICHc, se procede al inicio terapéutico. En la forma localizada el tratamiento es con dosis bajas de prednisona 0.5 mg/Kg o ciclosporina A, con dosis de reducción y bajo estrecha vigilancia, documentado con biopsia la actividad y su evolución.

En las formas extensas, el tratamiento de primera línea será con metilprednisolona a dosis de 1-2 mg/Kg de peso/día en infusión de una hora, si después de cinco días no hay mejoría la dosis debe incrementarse a 5 mg/Kg/día dividida en dos aplicaciones. La ciclosporina A³ suele administrarse en forma concomitante para mantener niveles séricos de 150-200 ng/dl, por radioinmunoanálisis (RIA), con este esquema la respuesta completa esperada es del 33% para riesgo alto y de 46% para riesgo estándar, con una supervivencia mayor al 80%, en este último grupo. Para aquellos enfermos que no logran respuesta clínica e histopatológica, las alternativas⁴ sin demostrar en todos los casos superioridad al esquema inicial, incluyen: a) Globulina antitimocito no mejora la sobrevida, ni reduce la incapacidad permanente. b) Prednisona con azatioprina demuestran respuestas en el 14 a 30% y mortalidad del 14 al 29%. c) Tacrolimus (FK506)⁵ bloquea la activación de células T, existe escasa experiencia en EICHc con respuesta en 30%, los efectos adversos son daño renal, náusea y vómito, d) Micofenolato de mofetilo,⁶ inhibe la proliferación de linfocitos B y T, experiencia limitada a pocos enfermos con respuestas del 11%, respuesta parcial del 40%, como efectos adversos neutropenia y trastornos gastrointestinales. e) Ácido ursodesoxicólico⁷ reduce la expresión de antígenos clase I en el hepatocito lo cual

puede bloquear la necrosis inmune hepatocelular. El tratamiento se asocia a otros inmunosupresores, por un espacio de 6 a 8 semanas, debe evaluarse en más estudios su utilidad.

Cuando predomina la lesión en piel y mucosas, las opciones de tratamiento son: a) Talidomida,⁸ sus efectos incluyen daño en la fagocitosis y quimiotaxis de neutrófilos, reducción en la producción de anticuerpos, reducción de células T ayudadoras y la inhibición de TNF alfa. La respuesta completa en 26-33% de los casos, un 20% de respuesta parcial, con una duración promedio de 240 días, sus principales efectos adversos sedación, constipación, neuropatía periférica y eritema generalizado. No incrementa el riesgo de recurrencia tumoral. b) Fotoquimioterapia (PUVA)⁹ la Irradiación ultravioleta A, después del tratamiento con 8 metoxy-psoralen mejora la afección a piel, directamente afecta los linfocitos efectores porque bloquea la presentación de antígenos y de señales co-estimulantes (IL-1) y/o induce anergia clonal de las células de Langerhans afectadas. Se aplica el tratamiento tres veces por semana, por aproximadamente cuatro a cinco meses. Las respuestas completas son del 40% y las parciales del 30%. No parece tener efecto sobre la lesión sistémica de la EICHc. Sus efectos adversos son quemadura de la región y eritema. c) Fotoquimioterapia extracorpórea¹⁰ se aplica a lesiones liquenoide o esclerodermatosa, se extraen los linfocitos por aferesis, una vez expuestos al 8 metoxi-psoralen y tratados con irradiación ultravioleta A con un sistema extracorpóreo, se da la reinfusión de las células tratadas, tres tratamientos por semana, con respuestas cercanas al 80%.

Las complicaciones del tratamiento inmunosupresor crónico: pérdida del injerto, la disminución del efecto injerto en contra de la leucemia, por tanto la posibilidad de recurrencia tumoral y la inmunodeficiencia humoral y celular.

Terapia adyuvante

Es común que la exacerbación clínica de la EICHc sea originada por una infección oportunista, se recomienda proteger al enfermo contra *Pneumocystis carinii*, micosis y virus del tipo herpes. Los gérmenes encapsulados suelen ser otra causa frecuente de infección. Otros virus que se presentan en forma estacional tales como el virus sincicial respiratorio, adenovirus, gripe y *Haemophilus* deben descartarse. Esquema de inmunizaciones para enfermos postrasplante son una prioridad una vez que han rebasado el periodo crítico, recordar que las inmunizaciones para estos enfermos deben ser provenientes de virus muertos o sus proteínas. El uso de globulinas hiperinmunes o actualmente globulinas espe-

cíficas, son ampliamente recomendadas, reducen la incidencia de infecciones oportunistas y de sepsis, puede atenuar la actividad de la EICH.

Referencias

1. **Wingard JR, Piantadosi S, Vogelsang GB, et al.** Predictors of death from chronic graft versus host disease after bone marrow transplantation. *Blood* 1989;4:1428-1435.
2. **Ferrara JLM, Deeg HJ.** Graft versus host disease. *New Engl J Med* 1991;325(10):667-674.
3. **Sullivan KM, Goley T, Nims J, et al.** Comparison of cyclosporine (CSP), prednisone (PRED) or alternative-day CSO/PRED in patients with standard and high risk chronic graft versus host disease (GVHD). *Blood* 1993;15(Suppl 1):215a (Abstract 845).
4. **Gaziev D, Galimberti M, Lucarelli G, Polchi P.** Chronic graft versus host disease: is there an alternative to the conventional treatment? *Bone Marrow Transplant* 2000;25(7):689-696.
5. **Tzakis AG, Abu-Elmagd K, Fung JJ, et al.** FK506 rescue in chronic graft versus host disease after bone marrow transplantation. *Transplant Proc*. 1991; 23: 3225-3227.
6. **Basara N, Blau WI, Romer R, et al.** Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic GVHD in bone marrow transplant patients. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22:61-65.
7. **Fried RH, Murakami CS, Fisher LD et al.** Ursodeoxycholic acid treatment of refractory chronic graft versus host disease of the liver. *Ann Intern Med* 1992;116:624-629.
8. **Browne PV, Weisdorf DJ, DeFor T, et al.** Response to thalidomide in refractory chronic graft versus host disease. *Bone Marrow Transplant* 2000;26(8):865-870.
9. **Aubin F, Brion A, Deconinck E, et al.** Phototherapy in the treatment of cutaneous graft versus host disease. *Transplantation* 1995;1:151-155.
10. **Sniecienski I, Parker P, Dagus A, et al.** Extracorporeal photopheresis (EP) is effective treatment for chronic refractory graft versus host disease (GvHD). *Blood* 1998;10 (Suppl 1): 454a. (Abstract 1877).