



doi: 10.35366/105030



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Reconstitución de los linfocitos T y células NK después del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH)

T cells and NK cell reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

Parra-Ortega Israel,* Gaytán-Morales José Félix,^{†,§} Castorena-Villa Iván,[‡] Mier-Cabrera Mónica,[‡] López-Martínez Briceida,* Ortiz-Navarrete Vianney,[¶] Olvera-Gómez Irlanda^{||,*}

Palabras clave:

Alogénico,
reconstitución
inmunológica, linfocitos
T, células NK.

Keywords:

*Allogeneic, immune
reconstitution, T cells,
NK cells.*

* Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez». Ciudad de México. Laboratorios Ruiz SYNLAB. Puebla, México.

[‡] Servicio de Trasplante de Médula Ósea, Hospital Infantil de México «Federico Gómez». Ciudad de México, México.

[§] Dirección de Implementación e Investigación en Cáncer, Centro Nacional de Equidad de Género y Salud

RESUMEN

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es el tratamiento establecido para niños diagnosticados con leucemia que no responden a quimioterapia así como en casos de alteraciones benignas. Dentro de los procesos biológicos que determinan el éxito de un TCPH, se encuentra la generación de un sistema inmunológico eficiente, el cual establece un ambiente de homeostasis entre los diferentes componentes celulares y solubles (citocinas, quimiocinas) para controlar las diversas interacciones de las células que participan en el proceso. La reconstitución de la inmunidad adaptativa se ve afectada por varios factores, entre ellos se encuentran los inherentes a las características del trasplante, que pueden tomar años hasta alcanzar un número adecuado de células linfoides con una funcionalidad óptima. La reconstitución inmunitaria adaptativa requiere de un largo tiempo, el cual incrementa el riesgo de fallar en la respuesta contra agentes infecciosos oportunistas. Además de monitorear los factores que influyen directamente en el éxito del injerto, deberán cuantificarse las subpoblaciones de linfocitos T y las células NK. Esto se correlaciona con el estado clínico y el proceso en la reconstitución celular, permitiendo la identificación del momento ideal para llevar a cabo intervenciones que acompañen el largo periodo de recuperación para contribuir a alcanzar un estado de inmunocompetencia del paciente.

ABSTRACT

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the established treatment for children with leukemia that do not respond to chemotherapy, as well as benign alterations. Among the biological processes that generate the success of HSCT is the generation of an efficient immune system, establishing an environment of homeostasis between the different cellular and soluble (cytokines, chemokines) components to control several interactions between the cells that participate in the process. The complete reconstitution of adaptive immunity is often affected by several factors. Some of them are inherent to the transplant, which takes even years to obtain an adequate number of lymphoid cells with optimal functionality. Adaptive immune reconstitution takes a long time, which increases the risk of failing to respond against opportunistic infectious agents. Moreover monitoring the factors that directly influence the success of the graft, T lymphocytes subpopulations, and NK cells should be quantified. This correlates with the clinical status and the progress in cellular reconstitution allowing the identification of the ideal moment to carry out interventions that accompany the long recovery period. This is in order to contribute to achieving a state of immunocompetence of the individual.



Citar como: Parra-Ortega I, Gaytán-Morales JF, Castorena-Villa I, Mier-Cabrera M, López-Martínez B, Ortiz-Navarrete V et al. Reconstitución de los linfocitos T y células NK después del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH). *Rev Mex Patol Clin Med Lab.* 2021; 68 (3): 123-133. <https://dx.doi.org/10.35366/105030>

Reproductiva. Ciudad de México, México.
 † Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México.
 ‡ Hospitales Federales de Referencia, Hospital Nacional Homeopático. Ciudad de México, México.
 ** Universidad Anáhuac México Norte.

Correspondencia:

Dra. Irlanda Olvera-Gómez

Hospital Nacional Homeopático Chimalpopoca No. 135, Col Obrera, 06800. Alcaldía Cuauhtémoc, CDMX, México.

E-mail:

irlandaolvera@gmail.com

Recibido: 17/01/2022

Aceptado: 09/02/2022

EL TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS (TCPH)

El TCPH es un procedimiento mediante el cual las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) son infundidas para restaurar la función de la médula ósea (MO) afectada parcial o completamente por enfermedades propias de la MO o como consecuencia de una alteración secundaria.¹⁻³ El TCPH es una alternativa terapéutica de enfermedades oncohematológicas de elevada mortalidad, y es el tratamiento de elección para muchas de las neoplasias y trastornos no malignos como las hemopatías congénitas, aplasias medulares y las inmunodeficiencias primarias.⁴⁻⁶

Según el tipo de donante, los TCPH se clasifican de acuerdo a su origen: en autólogos y alogénicos, en ambos se debe considerar la identidad y compatibilidad con base en el sistema del antígeno leucocitario humano (HLA del inglés *human leukocyte antigen*) y con ello se identifican los TCPH alogénicos de tres tipos: 1) HLA genotípicamente idéntico (por ejemplo, gemelos); 2) HLA fenotípicamente idéntico (familiar o no familiar); y 3) HLA no idéntico. El TCPH que más se realiza es de origen alogénico en 85% de los casos en nuestro país.⁷⁻¹¹

Las principales indicaciones son:

1. Enfermedades neoplásicas (hematológicas y tumores sólidos) que no remiten con el tratamiento basado en quimioterapia a dosis tolerables, pero que puedan curarse con tratamientos mieloablativos (con alta toxicidad medular) y la infusión de CPH para reconstituir y restablecer posteriormente la hematopoyesis normal. En la mayoría de los casos de neoplasias hematológicas el origen de las CPH debe ser alogénico, en contraste con los tumores sólidos en los cuales el trasplante autólogo es una opción terapéutica válida.¹²⁻¹⁴ En los alogénicos la reconstitución de las diferentes líneas celulares depende de las células del donador, ya que van a sustituir una hematopoyesis defectuosa o ineficiente; y en los trasplantes autólogos, la hematopoyesis depende directamente de las células del paciente con la

particularidad de que las células que fueron obtenidas y después infundidas van a ser las encargadas de la hematopoyesis después de un esquema de quimioterapia a altas dosis.

2. Enfermedades no neoplásicas (aplasias medulares, hemopatías congénitas, inmunodeficiencias y otras alteraciones congénitas) en las que ya no existe una médula funcional o esta médula no es capaz de producir ciertos elementos celulares sanguíneos en número y función adecuados por defectos genéticos. Para estas indicaciones sólo se usan los TCPH alogénicos.¹²⁻¹⁵

Entre los procesos biológicos que determinan el éxito de un TCPH, se encuentra la generación de un sistema inmunológico eficiente, el cual establece un ambiente de homeostasis entre los diferentes componentes celulares y humorales para controlar las diversas interacciones de las células que participan en la reconstitución de la hematopoyesis en el paciente.¹⁶⁻¹⁷

REINICIO DE LA HEMATOPOYESIS Y LINFOPOYESIS A PARTIR DE CÉLULAS TRASPLANTADAS

El proceso de hematopoyesis comienza a partir de la población de CPH CD34+, las cuales se encuentran en la MO, que además expresan un grupo de factores de transcripción que sustentan sus características de célula pluripotencial: *cmyb*, *runx1*, *gfi1b*, *tal1*, *mll*, *etv6*, *bmi*, *gata2*.¹⁸ La diferenciación de dichas células es regulada manteniendo un balance entre progenitores y precursores que se han clasificado en estirpes: 1) el mieloide (que expresa el factor de transcripción pu.1) y 2) el linfoide (que expresa *ikaros*). El linaje mieloide dará origen a las poblaciones de granulocitos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos, además de los monocitos, macrófagos, eritrocitos, megacariocitos, células cebadas y células dendríticas; mientras que el linaje linfoide dará origen a los linfocitos B, linfocitos T, células asesinas naturales o *natural killer* (NK) y la subpoblación de células dendríticas linfoides. Por lo tanto, siempre que existan las condiciones adecuadas en el microambiente como las células facilitadoras (CF) conformadas por dos subpoblaciones: CD56+ y CD56-;¹⁹ células estromales que

producen SCF1 (del inglés *stromal cell-derived factor 1*),²⁰ además de citocinas para su supervivencia y retención en órganos linfoides CXCR4²¹⁻²³ y proliferación,²⁴ y entonces alcanzar una generación de un repertorio hematológico e inmunológico completo y eficiente.¹⁸⁻²¹ Las rutas de diferenciación celular en las dos estirpes mencionadas están representadas como una serie de eventos que resultan de la combinación de factores intrínsecos y microambientes que conducen a la pérdida gradual de opciones de diferenciación en los progenitores. En paralelo, se genera la adquisición de funciones especializadas en los precursores más comprometidos que dan por resultado el origen de células maduras con capacidades efectoras.²⁰⁻²⁶

CARACTERÍSTICAS DE LA RECONSTITUCIÓN DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNITARIO DESPUÉS DEL TRASPLANTE

La reconstitución del sistema inmunitario posterior a un TCPH, principalmente del componente celular, es de vital importancia. Los componentes del sistema inmunitario celular y humoral se ven gravemente afectados por los efectos de la quimioterapia que se le administra al paciente durante el proceso de acondicionamiento (esteroides) previo al TCPH. La recuperación de las células del sistema inmunitario del receptor posterior a un TCPH inicia en las primeras dos semanas (componente mieloide) y en algunos casos se prolonga hasta un año o más (componente linfoides en particular los linfocitos T CD4+). Entre los mecanismos de defensa se encuentra la participación de los linfocitos T, principalmente en el control de infecciones por bacterias, virus, protozoos y hongos mediante la regulación de la producción de anticuerpos específicos por los linfocitos B.^{2,27-30}

La reconstitución completa de la inmunidad adaptativa a menudo se ve afectada por varios factores, entre ellos se encuentran los inherentes a las características del trasplante, pudiendo llegar a tardar años en obtener un número adecuado de células linfoides con una funcionalidad óptima. La reconstitución inmunológica cualitativa tiene un periodo muy largo de recuperación, lo cual puede aumentar el riesgo de falla en la capacidad de respuesta ante los agentes infecciosos oportunistas.^{6,31-37}

En el periodo postrasplante inmediato (durante las primeras 14 semanas o 100 días) la reconstitución del sistema inmunitario comienza con los neutrófilos y células NK en el primer mes.³⁸ En los primeros 12 meses las células B generadas se caracterizan por expresar CD1c+, CD5+, CD23+ y CD38+ así como IgM+ y en ausencia de EICH (enfermedad injerto contra huésped) las células periféricas que expresan CD19+ y CD20+, alcanzando

valores normales después de tres a seis meses del trasplante. En los pacientes sometidos a trasplantes autólogos, la recuperación es más rápida dado el aumento de células T cooperadoras CD4+ CD45RO+ (molécula asociada a linfocitos activados o de memoria). Por lo regular, la baja presencia de células T cooperadoras para llevar a cabo la estimulación de las células B resulta un inconveniente para el cambio de clase de inmunoglobulina de IgM a IgG después de la exposición antigénica.

En general, la recuperación inmunológica depende de un número importante de factores, dentro de los cuales los principales son: 1) tipo de paciente, 2) enfermedad de base y momento del TCPH, 3) tipo de trasplante, 4) tipo de acondicionamiento, 5) compatibilidad del HLA y 6) fuente de las células CD34+. En este último punto se ha demostrado que cuando las células provienen después de la administración de G-SCF (del inglés *growth stem cell factor*) al donador, la recuperación es más rápida en comparación con las que son recolectadas directamente de la médula ósea (MO). La razón es que en el injerto proveniente de células movilizadas en sangre periférica se obtienen 10 veces más linfocitos T y B, por lo que se observa un aumento importante de células CD4+ así como una relación CD4/CD8 más alta que en las recolecciones directas de MO.^{9,10,13}

Derivado de las variaciones mencionadas del sistema inmunitario, los pacientes cursan con diferentes infecciones en el periodo postrasplante. Esto ocasiona que existan periodos con mayor riesgo de infecciones. Para describir algunas características que deben considerarse en la etapa postrasplante se han descrito las siguientes tres fases, que comienzan desde el día cero del trasplante de la siguiente manera:^{9,10,13}

Fase I, conocida también como preimplante. Desde el día cero hasta el primer mes del trasplante. Durante este periodo los pacientes tienen dos factores de riesgo de infección: 1) la neutropenia y 2) la ruptura de la barrera cutáneo-mucosa. En esta fase por lo general los periodos de fiebre que se presentan tienen un origen en una infección bacteriana; sin embargo, es muy difícil identificar tempranamente al agente causal y por ende, el clínico toma decisiones terapéuticas de manera empírica. En los casos en los que el periodo y gravedad de las neutropenias sean consistentes, se debe considerar la presencia de infecciones por *Aspergillus* y los virus de la familia del herpes.^{27,39-41}

En esta etapa se llega a producir un ligero aumento en la producción de anticuerpos, esto puede ser debido a la transferencia de a) linfocitos B maduros del donador; b) células presentadoras de antígeno del donador sensibilizadas, c) linfocitos T (CD4+) provenientes del donador

que tienen interacción con cualquiera de los linfocitos B antígeno-específicos del donador o del receptor.^{9,10,13}

Fase II, postimplante. Esta fase es considerada desde el día 30 hasta el día 100 y se caracteriza por una deficiencia en la inmunidad mediada por células; en esta etapa la presencia de eventos relacionados al trasplante (la presencia de EICH, por ejemplo) puede modificar sustancialmente la reconstitución celular. Además, es importante considerar una vigilancia muy detallada en el manejo de la inmunosupresión, considerando que las infecciones por los virus de herpes, y en particular citomegalovirus (CMV), son más frecuentes y pueden comprometer el estado de salud del paciente. En el manejo clínico de estos pacientes no debe excluirse nunca la presencia de patógenos oportunistas.^{1,4,9,10,12}

La fase III, conocida también como fase tardía, se clasifica a partir de los 100 días postrasplante. En esta etapa las infecciones son más frecuentes en los pacientes con trasplante alogénico que sufren de EICH, los pacientes cursan con una afectación en la inmunidad humoral y celular, y tienen mayor riesgo de sufrir infecciones virales (CMV, virus varicela-zóster, virus Epstein-Barr y virus respiratorios). En esta etapa los pacientes que presentan números bajos o inferiores a los esperados de linfocitos T CD4+ y CD8+ y células NK, deben ser vigilados de manera más puntual y en dado caso modificar el manejo de inmunosupresores.^{1,4,9,10,12,27-29,40,41}

Al igual que la participación de los linfocitos T en la etapa postrasplante, es importante considerar varios factores, entre los que destacan dos mecanismos celulares:

1. Células residuales del receptor posterior al acondicionamiento pretrasplante.
2. Número de células T maduras del donador que fueron infundidas posterior al acondicionamiento del receptor.

Las células T del donante participan activamente en la regulación del efecto injerto contra leucemia (EICL) y de EICH, por tal motivo es indispensable mantener un balance adecuado en el número y actividad de estas células.^{25,26,39}

La reconstitución de los linfocitos T postrasplante es un proceso lento (Figura 1) que tarda de 24 a 48 meses, teniendo variables importantes para este proceso, entre las que destacan las siguientes:

1. Edad de paciente o receptor de CPH.
2. Régimen de acondicionamiento, ya sea mieloablatoivo o no.
3. Número de células T infundidas al momento del TCPH.
4. Presencia de EICH aguda o crónica.

La reconstitución de células T se genera a partir de CPH y de la actividad y participación de las células estromales del timo; posterior a la participación del timo, las células T *naïve* (vírgenes) migran a órganos periféricos o secundarios para expandirse por estímulos antigénicos y señales homeostáticas que aseguran el abastecimiento de linfocitos T de manera constante en las periferias.

La inmunidad celular se encuentra mediada por los linfocitos T y sirve de mecanismo de defensa contra los patógenos intracelulares y extracelulares. Los linfocitos T CD4+ reconocen antígenos que son procesados y mostrados por las células presentadoras de antígeno (CPA) (macrófagos, los linfocitos B, las células dendríticas, las células de Langerhans de la piel y las células endoteliales) en los órganos linfáticos periféricos. Los linfocitos T son estimulados para que proliferen y se diferencien en células efectoras (y memoria) que entran en circulación.

Los linfocitos T CD4+ cooperadores (Th, del inglés *T helper*) pueden diferenciarse en linfocitos TH1 efectoros especializados que secretan IFN- γ para mediar la defensa contra microorganismos intracelulares; en linfocitos TH2 que secretan IL-4, IL-5 que favorecen las reacciones inmunitarias mediadas por la IgE y los eosinófilos/mastocitos contra los helmintos, en tanto que la subpoblación Th9 que produce TGF- β e IL-4 está asociada también a

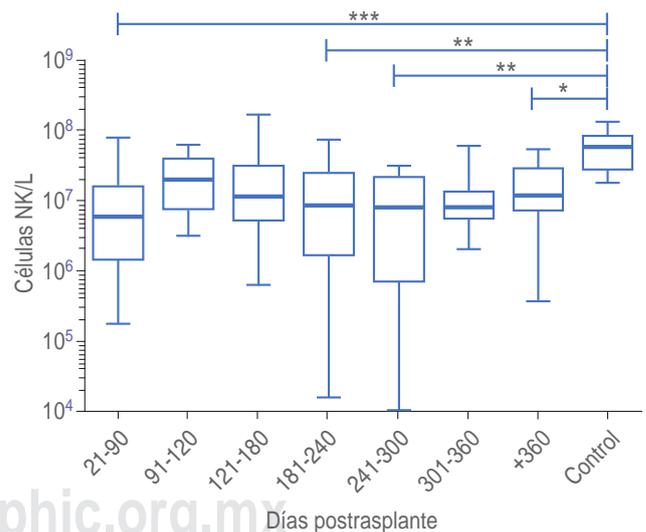


Figura 1: Cinética de la reconstitución de las células NK después del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas. Se muestra el número absoluto de las células NK (CD3- CD16+ CD56+) de sangre periférica identificadas por citometría de flujo de 21 receptores pediátricos en diferentes tiempos postrasplante (intervalo de 21 a 670 días), y un grupo control (que incluye 25 individuos pediátricos clínicamente sanos). Tomado de: Parra-Ortega I et al.⁵⁶

inmunidad contra parásitos, inmunidad tumores; y por último, los linfocitos T_H17 que promueven la inflamación y median la defensa contra los hongos y bacterias extracelulares así como autoinmunidades.^{36-38,42}

La regeneración postrasplante del compartimiento de células T se realiza por dos vías, la primera es la timoindependiente y la segunda es la timodependiente. Los linfocitos T circulantes postrasplante provienen de dos fuentes dentro de ellas: 1) las células residuales del receptor, pues son las células T que sobreviven al acondicionamiento y 2) la otra fuente está formada por las células T maduras del donador que fueron transfundidas en conjunto con las células CD34+. La cinética y la expansión de las células T, ya sea temprana o tardía posterior al TCPH, puede variar dependiendo de la enfermedad de base, el tipo de trasplante, la dosis de células T del donante y la intensidad del acondicionamiento.^{6,30-32}

La expansión de las células T naturalmente se desencadena por la estimulación de antígenos o mediante una proliferación homeostática en respuesta a un periodo de linfopenia, este último proceso se designa «expansión periférica homeostática» (EPH) y depende de interacciones de baja afinidad del CPH asociadas a péptidos propios en conjunto con la exposición a altos niveles de citocinas homeostáticas (IL-7 e IL-15). Esta forma de proliferación de células T no afecta la diversidad del TCR. La eficiencia de la EPH en la restauración de la diversidad del repertorio periférico estará limitada por el repertorio inicial de las células T maduras que sirven de fuente para la expansión. En ausencia de los linfocitos T *naïve* de nueva producción exportadas del timo, el compartimiento de células T de sangre periférica realiza cambios graduales como resultado de frecuentes interacciones con patógenos; el repertorio TCR humano está progresivamente restringido como consecuencia de las expansiones oligoclonales de antígenos específicos de los linfocitos T, que pueden llegar a convertirse en células de memoria.^{6,31-35}

Desde hace varias décadas se ha incrementado el número de moléculas descritas que permiten caracterizar a los linfocitos T desde los fenotipos *naïve* hasta los compartimientos de memoria central y efectora, incluyendo el estado de activación y efector de los linfocitos que son detectados en sangre periférica.^{34,35}

Células NK (*natural killer*). Las células asesinas naturales (del inglés *natural killer*) son linfocitos generados a partir de un precursor linfoide común, cuya función efectora está mediada por la producción de citocinas, especialmente altas cantidades de IFN- γ y su actividad citotóxica (para eliminar células infectadas o tumorales). Se localizan en sangre periférica y en los ganglios linfáticos,

además en piel, intestino, hígado, pulmones, útero y otros tejidos. Morfológicamente son similares a los linfocitos, pero sus marcadores en superficie son CD16+ CD56+ en ausencia de CD3.^{35-38,42-46}

Linfocitos T *naïve* o vírgenes. Los linfocitos maduros que egresan del timo se alojan principalmente en los órganos linfoides secundarios. La expresión de la isoforma CD45RA es uno de los principales y más antiguos marcadores para su fenotipificación. CD45RA es la isoforma de mayor peso molecular, puesto que conserva la expresión de los tres exones de CD45, y aunada a la expresión de moléculas de adhesión como CD62L (que se une a E-selectina), receptor de quimiocinas CCR7 (se han identificado dos ligandos para este receptor, CCL19 y CCL12) conforman el fenotipo *naïve*.

Se localizan en los órganos linfoides secundarios y es ahí donde las CPA les presentan péptidos en el contexto de moléculas del CPH clase I si son antígenos intracelulares, principalmente, y activan los linfocitos T CD8+ o CPH clase II (si son por lo general antígenos extracelulares) que a su vez activarán los linfocitos T CD4+.^{5,8,17,26,35,36}

Linfocitos T activados. El reconocimiento de los péptidos presentados a través de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad conlleva a cambios intracelulares como liberación de las reservas de calcio, translocación de factores de transcripción al núcleo, entre otros, además de la modificación de la expresión de moléculas en la superficie. Este estado llamado activación se asocia a una disminución en la expresión de la isoforma CD45RA+, aparición de la molécula CD45RO, isoforma de menor peso molecular (que se une a CD22, que es una proteína que se encuentra en la membrana de los linfocitos B), el aumento en la expresión de CCR7, disminución de CD62L y la aparición de la molécula asociada a células T restringida al CPH de clase I, conocida como CRTAM (por sus siglas en inglés *Class-I MHC-restricted T cell associated molecule*). La expresión de esta molécula en humanos y ratones se presenta en los linfocitos T activados, células NK. Los linfocitos activados migran de los órganos linfoides secundarios al resto del organismo, principalmente al sitio donde se detecte la señal de daño o peligro (por lo general una zona con presencia de inflamación), además de detectarse en sangre periférica. El fenotipo de los linfocitos T activados se pueden encontrar tanto en la población CD45RA+, que serían los recientemente activados, y en la población de memoria: CD45RO+ por una reactivación. Las moléculas que expresan postactivación son: CD69 y CRTAM; se puede observar la coexpresión de dichas moléculas.^{5,8,17,26,35,36}

Linfocitos T efectores. Posterior a la activación, los linfocitos T adquieren funciones efectoras. En el caso de los linfocitos T CD4+ se detecta la producción de citocinas que pueden polarizar el resto de la respuesta inmunológica. Se pueden determinar poblaciones que producen principalmente: IFN- γ y TNF- α (Th1, proinflamatorias); IL-17 (Th17); IL-9 (Th9) e IL-4 e IL-10 (Th2, antiinflamatorias). Los linfocitos T CD8 producen citocinas como TNF- α e IFN- γ y poseen capacidad citotóxica (que les permite eliminar células infectadas o tumorales) a través de moléculas como granzima B y perforina. El fenotipo de los linfocitos T efectores es: CD45RA+ CD62L- CCR7-.^{4,5,8,17,26,35,36}

Linfocitos T de memoria. Si la activación de los linfocitos T *naïve* es apropiada, entonces se inducirá la generación de una población de memoria. Estas células se localizan en los órganos linfoides secundarios principalmente y en sangre periférica.

En el humano se utiliza la molécula CD45RO como un marcador para seleccionar la población de células que son progenie de un linfocito T *naïve* activado.

La presencia o ausencia de las moléculas: CCR7 y CD62L en la superficie proveen en conjunto dos fenotipos: 1) las células T de memoria central (TCM): CD45RO+ CD62L+ CCR7+ y 2) las de memoria efectora (TEM): CD45RO+CD62L-CCR7-.

Las TCM son células que residen principalmente en los órganos linfoides secundarios y son las que mantienen el compartimento de TEM.

En tanto que las TEM son las que responden de manera pronta con una inmediata capacidad efectora ante un encuentro subsecuente con el patógeno y se encuentran sobre todo circulando en el organismo.^{35-38,42-46}

IMPORTANCIA DE LAS SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS T EN EL SEGUIMIENTO DE PACIENTES SOMETIDOS A TCPH

La importancia de la identificación de fenotipo de linfocitos T en la periferia en pacientes sometidos a TCPH se resume de la siguiente manera:⁴⁷⁻⁵⁴

1. Linfocitos T *naïve*: reconstitución de la población de linfocitos T CD4+ y CD8+ proveniente principalmente del donador como resultado del exitoso injerto de las células trasplantadas.
2. Linfocitos T activados: cuando los linfocitos T *naïve* reconocen un antígeno, adquieren un fenotipo de activación desde los primeros minutos y puede durar por horas. El antígeno puede ser de origen viral, fúngi-

co, bacteriano, células tumorales, autoantígenos o por reconocimiento alogénico: EICH aguda o crónica.

3. Efectores: los linfocitos generados de la activación de un linfocito T *naïve* o de memoria adquieren la capacidad de producción de citocinas y/o citotoxicidad.
4. Linfocitos T de memoria: existió una activación previamente y la progenie de esos linfocitos ha permanecido en el organismo y puede responder en un segundo reconocimiento del antígeno (infección viral, fúngica, bacteriana, reconocimiento de células neoplásicas o por reconocimiento alogénico: EICH crónica) de manera eficiente en magnitud de proliferación y capacidad efectora (producción de citocinas y citotoxicidad).⁴⁶⁻⁵⁵

CONSIDERACIONES EN LA RECONSTITUCIÓN DE LAS CÉLULAS NK

En una serie de pacientes en los que se evaluó la reconstitución de células NK, observamos que la recuperación temprana de las células NK acontece en el periodo de tres a seis meses postrasplante; sin embargo, se observan momentos en los que el número absoluto de células es menor, por lo que diversos eventos como infecciones y enfermedad injerto contra hospedero (EICH) podrían afectar negativamente la reconstitución de las células NK (*Figura 1*).⁵⁶

En algunos informes se describe que durante el primer mes de la etapa postrasplante el número de células NK debe ser $> 0.75 \times 10^8/L$ cuando la fuente de obtención de las células CD34+ es la médula ósea; cuando las células CD34+ son recolectadas de sangre periférica, la reconstitución se obtiene a partir de los cuatro meses en pacientes pediátricos.¹ En otra serie de pacientes se logró identificar que la reconstitución alcanzó una mediana de 305 células NK/ μL (rango de 30 ± 1200) para el día 130 en promedio.⁵⁷ Los anteriores valores son superiores a los obtenidos en los pacientes y el grupo control de la investigación que realizamos nosotros, por lo que la comparación numérica entre las diferentes series no es pertinente dadas las diferentes características de cada grupo, en las cuales influyen diversos factores externos:

1. Enfermedad por la que se realiza el TCPH.
2. El esquema de acondicionamiento (que aunado a la administración de 50 mg/kg/día de ciclofosfamida en los días tres y cuatro postrasplante como medida profiláctica para la prevención de EICH aguda generó una disminución de la linfopoyesis en nuestros pacientes y, por ende, la recuperación de las células NK fue afectada durante los primeros 90 días de la etapa postrasplante).
3. Tipo de trasplante.
4. Tipo de donador y compatibilidad de HLA.

Eventos adversos relacionados al TCPH. Entre los eventos adversos relacionados con el TCPH se encuentran condiciones graves y potencialmente mortales cuando no son ponderadas de manera correcta (la mortalidad relacionada con el trasplante) como el desarrollo de infecciones y la presencia de EICH.^{47,48}

La susceptibilidad a las infecciones oportunistas es ocasionada por los periodos de inmunosupresión generada por el acondicionamiento para la infusión celular y por el tiempo en que la reconstitución inmunológica postrasplante se lleva a cabo. Diversas evidencias sugieren que después de someterse a un TCPH, la recuperación de linfocitos derivados del donador (pacientes con evidencia de injerto del trasplante como quimerismo al 100%) en sangre periférica se asocia con un mejor pronóstico y que un recuento bajo de los mismos a los 30 días postrasplante predice un peor pronóstico. Las células T CD4+ y CD8+ tienen un papel importante en la fase efectora cuando interactúan con las células NK para mediar la producción de agentes inflamatorios y la destrucción celular por citotoxicidad.^{48-50,58}

La presencia de EICH es una de las dos causas principales de morbilidad posterior al trasplante alogénico; es un síndrome clínico derivado de la acción de las células inmunocompetentes del donador contra los tejidos del receptor y se lleva a cabo por la activación de los linfocitos alorreactivos (que reconocen los antígenos del receptor en el caso del donador). Esta entidad clínica fue descrita en un inicio en modelos experimentales murinos como una enfermedad secundaria, en la que se había sometido a ratones a diferentes esquemas de radiación y posteriormente se transfundían con células esplénicas normales de otro individuo, lo que ocasionaba una serie de manifestaciones a nivel intestinal, hepático y en piel. La incidencia de EICH grados II a IV es de 40%, pero puede variar de 10% a 80% según los factores de riesgo.⁵⁹⁻⁶³

Los pacientes con un seguimiento a largo plazo del TCPH que son sometidos a esquemas de acondicionamiento que contemplan quimioterapia a altas dosis y radioterapia corporal total, llegan a tener complicaciones que pueden ocurrir en los primeros años o inclusive años más tarde. Entre las complicaciones más graves sin duda se encuentran las infecciones recurrentes y la manifestación de EICH, pero hay otras que deben considerarse en estos pacientes para realizar un diagnóstico temprano, ya que impactan en la morbilidad y mortalidad relacionadas con el TCPH. Las complicaciones se pueden dividir en agudas y crónicas, entre las cuales se encuentran complicaciones hemáticas, cardiovasculares, gastrointestinales, hepáticas, pancreáticas, renales, metabólicas, neurológicas y pulmonares, cuyo tratamiento depende de cada caso.^{45,64,65}

Recientemente, la fisiopatología de la EICH aguda^{45,64,65} ha sido descrita como un proceso de tres pasos, donde la participación de las células T provenientes del donador es fundamental, estos tres pasos consisten en:

1. El efecto de la radiación pretrasplante/régimen de acondicionamiento de quimioterapia, el cual causa daño en el tejido del receptor, incluyendo ruptura de la barrera epitelial intestinal y la liberación de citocinas proinflamatorias y de moléculas asociadas al daño (DAMPs por sus siglas en inglés *damage-associated molecular patterns*: patrones moleculares asociados a daño).
2. La activación de CPA, liberación y amplificación de factores inflamatorios.
3. Activación y expansión de las células T del donador.

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EVALUAR LA RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA EN PACIENTES SOMETIDOS A TCPH

Las pruebas de laboratorio que se realizan para dar seguimiento a la reconstitución inmunológica son las siguientes:

1. Citometría hemática completa.
2. Cuantificación de inmunoglobulinas (IgM, IgG, IgA).
3. Subpoblación de linfocitos B, T y células NK.
4. Subpoblación de linfocitos T (*naïve*, activados, efectores, memoria).

De acuerdo al protocolo de seguimiento establecido en cada unidad de TCPH, en el Hospital Infantil de México «Federico Gómez» hemos implementado una vigilancia en los días +30, +60, +90, +120, +150 y +180 post-TCPH.⁶⁶

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN LA CUANTIFICACIÓN DE LAS DIFERENTES POBLACIONES DE LINFOCITOS T Y CÉLULAS NK EN PACIENTES SOMETIDOS A TCPH

En pacientes pediátricos sometidos a TCPH se ha descrito que el número de linfocitos T deben llegar a un valor superior a 1.0×10^9 cel/L posterior a los seis meses. En nuestra población en el Hospital Infantil de México «Federico Gómez» logramos identificar que se alcanzaron cifras ligeramente menores (9.3×10^8 Cel/L) posterior a 180 días postrasplante y antes del año postrasplante, posterior a esa fecha se obtuvieron valores similares a los descritos.^{49-56,66}

Existen publicaciones^{25,27,34,39,40,56,66} que ponderan valores de referencia de reconstitución de los grupos

celulares incluyendo los linfocitos T *naïve* posterior al TCPH. Se ha observado que los linfocitos T CD4+ *naïve* alcanzan la reconstitución completa después de 12 meses del trasplante, con valores superiores a $0.25 \times 10^9/L$ a seis meses cuando el origen de las células trasplantadas es de médula ósea, $0.25 \times 10^9/L$ a 12 meses en el caso de sangre periférica movilizada y a ocho meses cuando la fuente es sangre de cordón umbilical.

Hemos identificado que en algunos casos las diferentes subpoblaciones de linfocitos T se mantienen por debajo del valor esperado durante los primeros 12 meses, lo que tiene como consecuencia un mayor riesgo de infecciones por patógenos oportunistas, aumentando el riesgo de complicaciones en la etapa postrasplante.

En general, los pacientes que se someten a TCPH en su etapa postrasplante deben tener cuidado extremo reduciendo los riesgos y exposiciones a patógenos. A pesar de las medidas profilácticas tomadas ante las infecciones, las complicaciones infecciosas continúan siendo una causa importante de morbilidad. La evaluación y manejo adecuado de estos pacientes requiere del conocimiento de los múltiples factores que influyen en la etiología, manifestaciones y gravedad de los procesos infecciosos, por lo que integrar los valores de las subpoblaciones de linfocitos T ayuda al equipo clínico a conocer el estado de inmunocompetencia de los pacientes.^{25,27,34,39,40,56,66}

En cuanto a la reconstitución de los linfocitos T CD8+ *naïve*, se ha descrito que se alcanzan valores de $0.5 \times 10^9/L$ a los nueve meses cuando el origen de las células trasplantadas es la médula ósea. En los casos en los que se utilizó sangre periférica movilizada (después de un esquema de administración de la citocina G-CSF) han llegado a tardar hasta 24 meses y en el caso de los cordones umbilicales tardan hasta ocho meses. Los valores de linfocitos T de memoria deben alcanzar valores superiores a $0.5 \times 10^9/L$ a los 24 meses cuando las células progenitoras provienen de sangre periférica.¹

Dentro de los factores más importantes que afectan la reconstitución inmunológica de las células T se encuentran la presencia de EICH (aguda y crónica) y el tratamiento inmunosupresor. El desarrollo de EICH aguda se ve influido por el número de linfocitos T maduros del donador que tienen capacidad alorreactiva y que fueron infundidos al momento de realizar el TCPH; la discordancia de HLA o la incompatibilidad de género entre donador y receptor; la intensidad del régimen de acondicionamiento aplicado, la reactivación de CMV y la fuente celular son variables que deben considerarse para un análisis más detallado. Tanto la linfopenia, la presencia de EICH y el tratamiento inmunosupresor prolongado condicionan infecciones recurrentes durante al menos un

año posterior al trasplante con virus latentes y patógenos oportunistas (CMV, VEB, adenovirus y el poliomavirus BK). En los pacientes analizados, este tipo de eventos afectaron de manera negativa (menor número de células en las diferentes cuantificaciones) la reconstitución de las diferentes poblaciones de linfocitos T (Figura 2).^{54,56-58}

Está bien establecido que las infecciones siguen siendo la causa más frecuente y significativa de morbilidad posterior al TCPH allogénico. Se ha reportado que la incidencia de neumonías en este tipo de pacientes es de 13.6% y la mortalidad es de 100% debido a una disfunción orgánica múltiple.⁶⁷ Los linfocitos T son las células efectoras más importantes en el control de infecciones después de haber resultado insuficiente la acción de las células del sistema inmunitario innato. Una reconstitución inmunitaria temprana ejerce un efecto positivo en el control de enfermedades, principalmente en el control de reactivaciones de CMV después del TCPH. La recuperación de los linfocitos T CD4+ y CD8+ es de vital ayuda para el paciente, más aún cuando llevan a cabo sus capacidades efectoras en la protección de infecciones; sin embargo, se debe considerar que una generación aumentada de clones *de novo* es un factor de riesgo de la generación de EICH aguda o crónica.^{37,50,51,54,56-58}

Es evidente la necesidad de conocer la reconstitución del sistema inmunitario en la etapa postrasplante, ya que puede apoyar al equipo clínico a tomar acciones en el manejo de los pacientes. De acuerdo a lo observado en diversas publicaciones,⁵⁶⁻⁵⁸ es imperativo tomar medidas profilácticas contra patógenos oportunistas y en algunos casos en los que el número de linfocitos CD8+ y de células NK se encuentre muy disminuido, reducir la inmunosupresión y favorecer la proliferación y expansión de dichas células. Cuantificar las diferentes subpoblaciones de linfocitos T y células NK genera información importante para el clínico, ya que pone de manifiesto cómo las células *de novo* provenientes del donador (en los casos que el quimerismo sea mayor de 95% o cuando se tuvieron datos clínicos de que se haya alojado el injerto) llevan a cabo sus funciones efectoras hasta llegar a formar nichos celulares en los compartimientos de memoria (central y efectora) que ayudan al receptor del TCPH a tener un ambiente de homeostasis celular y mantener protegido al paciente.

Además de los factores inherentes que influyen directamente en el éxito del injerto y reconstitución del sistema inmunitario, el monitoreo de las subpoblaciones del sistema inmunitario adaptativo debe considerarse como un estudio de laboratorio de interés en los individuos trasplantados con células progenitoras hematopoyéticas, esto con la intención de relacionar el estado clínico con el progreso en la reconstitución celular permitiendo identificar el momento

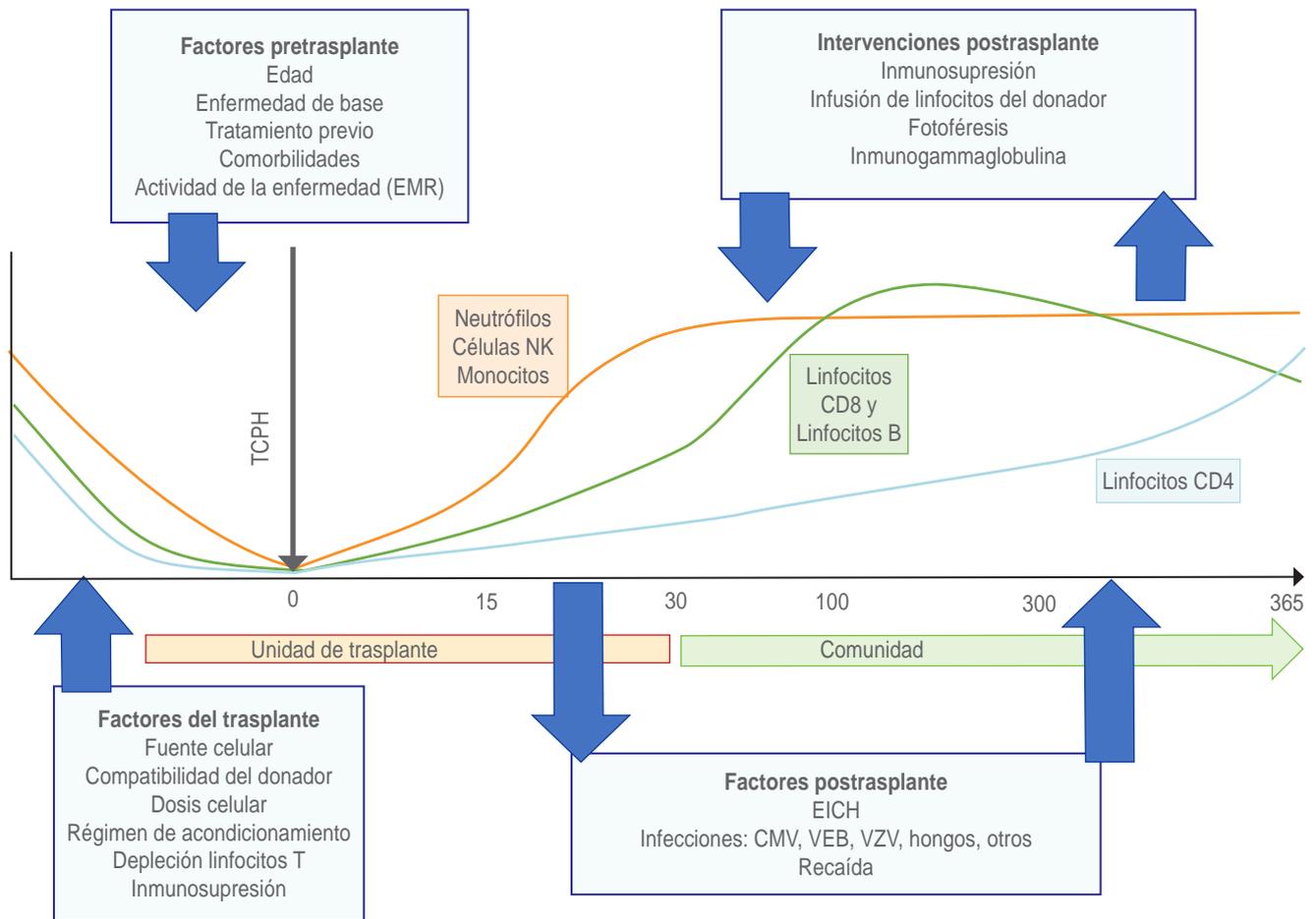


Figura 2: Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y los factores involucrados en el proceso. Se indican los factores inherentes al injerto, los relacionados al pretrasplante y al postrasplante. Además, se refieren las intervenciones que se realizan durante la recuperación, así como la reconstitución de las distintas subpoblaciones de leucocitos. Tomado de: Gaytán-Morales JF et al.⁵⁸

CMV = citomegalovirus; VEB = virus de Epstein-Barr; EICH = enfermedad de injerto contra huésped; EMR = enfermedad residual mínima; NK = células *natural killer*; VZV = virus varicela-zóster.

idóneo para realizar intervenciones que acompañen el largo periodo de recuperación, para con ello contribuir a alcanzar un estado de inmunocompetencia del individuo.^{65,68,69}

REFERENCIAS

1. Thomas E, Blume K, Forman S et al. Thomas' hematopoietic cell transplantation. 3.ª ed. Malden: Blackwell; 2004.
2. Koning C, Plantinga M, Besseling P et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016; 22: 195-206.
3. Jaime Fagundo JC, Dorticós Balea E, Pavón Morán V et al. Aspectos inmunológicos del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2006; 22(3).
4. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología Celular y Molecular.* 6.ª ed. España: Elsevier; 2008.
5. Chen BJ, Cui X, Sempowski GD et al. Hematopoietic stem cell dose correlates with the speed of immune reconstitution after stem cell transplantation. *Blood.* 2004; 103 (11): 4344-4352.
6. Chao NJ, Liu CX, Rooney B et al. Nonmyeloablative regimen preserves "niches" allowing for peripheral expansion of donor T-cells. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2002; 8: 249-256.
7. Maecker HT, McCoy JP, Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the Human Immunology Project. *Nat Rev Immunol.* 2012; 12 (3): 191-200.
8. Admiraal R, van Kesteren C, Jol-van der Zijde CM et al. Association between anti-thymocyte globulin exposure and CD4+ immune reconstitution in paediatric haemopoietic cell transplantation: a multicentre, retrospective pharmacodynamic cohort analysis. *Lancet Haematol.* 2015; 2 (5): e194-203.
9. Pérez-García M, Olaya-Vargas A, Del Campo-Martínez A et al. Reconstitución inmunológica en niños receptores de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Alerg Asma Inmunol Pediatr.* 2012; 21 (2): 72-79.

10. Krenger W, Blazar BR, Hollander GA. Thymic T-cell development in allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2011; 117: 6768-6776.
11. Huttunen P, Taskinen M, Siitonen S et al. Impact of very early CD4(+)/CD8(+) T cell counts on the occurrence of acute graft-versus-host disease and NK cell counts on outcome after pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 2015; 62 (3): 522-528.
12. Szanto CL, Langenhorst J, de Koning C et al. Predictors for autoimmune cytopenias after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020; 26: 114-122.
13. Eyrych M, Leiler C, Lang P et al. Prospective comparison of immune reconstitution in pediatric recipients of positively selected CD34+ peripheral blood stem cells from unrelated donors vs recipients of unmanipulated bone marrow from related donors. *Bone Marrow Transp*. 2003; 32: 379-390.
14. Melenhorst JJ, Tian X, Xu D et al. Cytopenia and leukocyte recovery shape cytokine fluctuations after myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2012; 97: 867-873.
15. Sugita K, Soiffer RJ, Murray C et al. The phenotype and reconstitution of immunoregulatory T cell subsets after T cell depleted allogeneic and autologous bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1994; 57: 1465-1473.
16. Roux E, Dumont Girard F, Starobinski M et al. Recovery of immune reactivity after T-cell-depleted bone marrow transplantation depends on thymic activity. *Blood*. 2000; 96: 2299-2303.
17. Pelayo R, Santa J, Velasco I. *Células troncales y medicina regenerativa*. 1.ª ed. México: Editores Buena Onda; 2011.
18. Jagannathan-Bogdan M, Zon LI. Hematopoiesis. *Development*. 2013; 140: 2463-2467.
19. Huang Y, Elliott MJ, Yolcu ES et al. Characterization of human CD8(+)/TCR(-) facilitating cells in vitro and in vivo in a NOD/SCID/IL2ry(null) mouse model. *Am J Transplant*. 2016; 16: 440-453.
20. Lataillade JJ, Clay D, Bourin P et al. Stromal cell-derived factor 1 regulates primitive hematopoiesis by suppressing apoptosis and by promoting G(0)/G(1) transition in CD34(+) cells: evidence for an autocrine/paracrine mechanism. *Blood*. 2002; 99: 1117-1129.
21. Karlsson R, Engstrom M, Jonsson M et al. Phosphatidylinositol 3-kinase is essential for kit ligand-mediated survival, whereas interleukin-3 and flt3 ligand induce expression of antiapoptotic Bcl-2 family genes. *J Leukoc Biol*. 2003; 74: 923-931.
22. Broxmeyer HE, Cooper S, Kohli L et al. Transgenic expression of stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine ligand 12 enhances myeloid progenitor cell survival/antiapoptosis in vitro in response to growth factor withdrawal and enhances myelopoiesis in vivo. *J Immunol*. 2003; 170: 421-429.
23. Mohle R, Bautz F, Rafii S et al. The chemokine receptor CXCR-4 is expressed on CD34+ hematopoietic progenitors and leukemic cells and mediates transendothelial migration induced by stromal cell-derived factor-1. *Blood*. 1998; 91: 4523-4530.
24. Ildstad ST, Leventhal J, Wen Y et al. Facilitating cells: translation of hematopoietic chimerism to achieve clinical tolerance. *Chimerism*. 2015; 6: 33-39.
25. Dekker L, de Koning C, Lindemans C et al. Reconstitution of T cell subsets following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *cancers (basel)*. 2020; 12: 1974-1992.
26. Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K et al. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell Stem Cell*. 2007; 1: 685-697.
27. Sun J, Ramos A, Chapman B et al. Clonal dynamics of native haematopoiesis. *Nature*. 2014; 514: 322-327.
28. Pietras EM, Reynaud D, Kang YA et al. Functionally distinct subsets of lineage-biased multipotent progenitors control blood production in normal and regenerative conditions. *Cell Stem Cell*. 2015; 17: 35-46.
29. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC et al. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol*. 1999; 17: 189-220.
30. Benny J, Chen, Xiuyu Cui et al. Chao Hematopoietic stem cell dose correlates with the speed of immune reconstitution after stem cell transplantation. *Blood*. 2004; 103: 4344-4352.
31. Cho BK, Wang C, Sugawa S et al. Functional differences between memory and naive CD8 T cells. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 2976-2981.
32. Guillaume T, Rubinstein DB, Symann M. Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 1998; 92: 1471-1490.
33. Brenner MK, Wimperis JZ, Reittie JE. Recovery of immunoglobulin isotypes following T cell depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. 1986; 64: 125-132.
34. Storek J. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood* 2001; 97: 3380-3389.
35. Small TN, Keever CA, Weiner-Fedus S et al. B cell differentiation following autologous, conventional, or T cell depleted bone marrow transplantation: A recapitulation of normal B cell ontogeny. *Blood*. 1990; 76: 1647-1656.
36. Thomas ED, Blume K, Forman SJ. *Bacterial infections in hematopoietic cell transplantation*. Blackwell Science. 1999: 537-554.
37. Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol*. 2016; 7: 507-522.
38. Chen J, Guan L, Tang L et al. T helper 9 cells: a new player in immune-related diseases. *DNA Cell Biol*. 2019; 38: 1040-1047.
39. Riddell J, Gazit R, Garrison BS et al. Reprogramming committed murine blood cells to induced hematopoietic stem cells with defined factors. *Cell*. 2014; 157: 549-564.
40. Ivanovs A, Rybtsov S, Anderson RA et al. Identification of the niche and phenotype of the first human hematopoietic stem cells. *Stem Cell Rep*. 2014; 2: 449-456.
41. Piemontese S, Ciceri F, Labopin M et al. A survey on unmanipulated haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute leukemia. *Leukemia*. 2015; 29: 1069-1075.
42. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD et al. CD4+ T cells: differentiation and functions. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012: 925135.
43. Olkinuora H, von Willebrand E, Kantele JM et al. The impact of early viral infections and graft-versus-host disease on immune reconstitution following paediatric stem cell transplantation. *Scand J Immunol*. 2011; 73: 586-593.
44. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989; 7: 145-173.
45. Storek J. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood* 2001; 97: 3380-3389.
46. Pallmer K, Oxenius A. Recognition and regulation of T cells by NK cells. *Front Immunol*. 2016; 7: 251.
47. Dutton RW, Bradley LM, Swain SL. T cell memory. *Annu Rev Immunol*. 1998; 16: 201-223.
48. Simoni Y, Fehlings M, Kloverpris HN et al. Human innate lymphoid cell subsets possess tissue-type based heterogeneity in phenotype and frequency. *Immunity*. 2017; 46 (1): 148-161.
49. Williams KM, Hakim FT, Gress RE. T cell immune reconstitution following lymphodepletion. *Semin Immunol*. 2007; 19: 318-330.

50. Ferrara JLM, Levy R, Chao NJ. Pathophysiologic mechanism of acute graft-vs-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 25: 347-356.
51. Berzins SP, Uldrich AP, Sutherland JS et al. Thymic regeneration: teaching an old immune system new tricks. *Trends Mol Med.* 2002; 8: 469-476.
52. Toka FN, Suvas S, Rouse BT. CD4+ CD25+ T cells regulate vaccine-generated primary and memory CD8+ T-cell responses against herpes simplex virus type 1. *J Virol.* 2004; 78: 13082-13089.
53. Abusarah J, Khodayarian F, Cui Y et al. Thymic Rejuvenation: are we there yet?. En: D'Onofrio G. *Gerontology.* 1.ª ed. 2018.
54. Parra-Ortega I, Salceda-Rangel KS, Nájera-Martínez N et al. Determinación y cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T y células natural killer en sangre periférica de individuos sanos por citometría de flujo. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2019; 76: 66-78.
55. Goronzy JJ, Fang F, Cavanagh MM et al. Naive T cell maintenance and function in human aging. *J Immunol.* 2015; 194 (9): 4073-4080.
56. Parra-Ortega I, Nájera-Martínez N, Gaytán-Morales F et al. Natural killer cell reconstitution after hematopoietic stem-cell transplantation in children. *Gac Med Mex.* 2020; 156: 187-193.
57. Eyrich M, Lang P, Lal S, et al. Prospective analysis of the pattern of immune reconstitution in a paediatric cohort following transplantation of positively selected human leucocyte antigen-disparate haematopoietic stem cells from parental donors. *Br J Haematol.* 2001; 114: 422-432.
58. Gaytán-Morales JF, Castorena-Villa I, Cortés-Flores DC et al. Respiratory viral infections in pediatric patients with hematopoietic stem cell transplantation. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2021; 78: 191-199.
59. Stacy S, Krolick KA, Infante AJ et al. Immunological memory and late onset autoimmunity. *Mech Ageing Dev.* 2002; 123 (8): 975-985.
60. Stephanie JL. New approaches for preventing and treating chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 2005; 11: 4200-4206.
61. Farag S, Fehniger L. Natural killer cell receptors: new biology and insights into the graft-versus-leukemia effect. *Blood.* 2002; 10: 1935-1947.
62. Booth C, Lawson S, Veys P. The current role of T cell depletion in paediatric stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2013; 162: 177-190.
63. Baron F, Labopin M, Niederwieser D et al. Impact of graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: a report from the acute leukemia working party of the european group for blood and marrow transplantation. *Leukemia.* 2012; 26: 2462-2468.
64. Tsimberidou AM, Stavroyianni N, Viniou N et al. The hellenic cooperative group: comparison of allogeneic stem cell transplantation, high-dose cytarabine, and autologous peripheral stem cell transplantation as postremission treatment in patients with de novo acute myelogenous leukemia. *Cancer.* 2003; 97: 1721-1731.
65. Weisdorf D, Ruiz-Arguelles GJ, Srivastava A et al. Economic challenges in hematopoietic cell transplantation: how will new and established programs face the growing costs? *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017; 11; 1815-1816.
66. Griffith AV, Fallahi M, Nakase H et al. Spatial mapping of thymic stromal microenvironments reveals unique features influencing T lymphoid differentiation. *Immunity.* 2009; 31 (6): 999-1009.
67. Ruggiu M, Bedossa P, Rautou PE, Bertheau P, Plessier A, Peffault de Latour R et al. Utility and Safety of Liver Biopsy in Patients with Undetermined Liver Blood Test Anomalies after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Monocentric Retrospective Cohort Study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018; 24 (12): 2523-2531. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.07.037.
68. González-Llano O, González-López EE, Ramírez-Cázares AC et al. Haploidentical peripheral blood stem cell transplantation with posttransplant cyclophosphamide in children and adolescents with hematological malignancies. *Pediatr Blood Cancer.* 2016; 11: 2033-2037.
69. Martínez-Laperche C, Buces E, Aguilera-Morillo MC et al. A novel predictive approach for GVHD after allogeneic SCT based on clinical variables and cytokine gene polymorphisms. *Blood Adv.* 2018; 14: 1719-1737.