

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**

**SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

**RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA EN NIÑOS
RECEPTORES DE TRASPLANTE DE CÉLULAS
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA PEDIATRICA
PRESENTA
DRA. CONSUELO NAYELIT BARRERA VÁZQUEZ**

México D.F. junio 2011



**I N P
CENTRO DE INFORMACION
Y DOCUMENTACIÓN**

“RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA EN NIÑOS RECEPTORES DE TRASPLANTE DE
CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS”



Dr. José N. Reynes Manzur
Director de enseñanza



Dra. Mirella Vázquez Rivera
Jefa del departamento de Pre y Postgrado
Instituto Nacional de Pediatría



Dr. Roberto Rivera Luna
Profesor Titular del curso de Oncología y
Subdirector de Hemato-Oncología
Instituto Nacional de Pediatría



Dr. Martín Pérez García
Médico Adscrito Servicio de Oncología Médica
Instituto Nacional de Pediatría



AGRADECIMIENTOS

A Dios por acompañarme todos los días

A mi Papi por que detrás de este logro estas tú, gracias por darme la oportunidad de hacer realidad este triunfo

A mi Mami por que sin ti no hubiera sido posible, si hay algo que sé hacer bien es por ti

A mis hermanos Rafael, Oscar, Lis y Gabo por su incondicional apoyo, por sus infinitos consejos y por creer en mi

A mi Esposo Oscar por ser mi compañero de vida, por que llego en el momento preciso y se estanco en mi corazón desde antes de estar aquí conmigo, por que se convirtió en mi inspiración y mi orgullo, por que a través de ti he aprendido a no renunciar y a seguir adelante sin dejarnos vencer, gracias mi amor por tu infinita paciencia, por tu hermosa compañía y por tu inagotable apoyo, gracias por compartir a mi lado este logro, esta tesis también es tuya TE AMO HOY Y SIEMPRE

A mi Hija Camila a quien le he robado horas de su cuidado por concluir esta tesis, gracias mi niña preciosa

A mis profesores por brindarme sus conocimientos y por motivarme a seguir en esta área, en especial a mi gran maestro Dr. Roberto Rivera Luna por confiar en mi por todos sus consejos y por ayudarme a realizarme como profesionista y como persona

A mi tutor Dr. Martín Pérez García por su sincera amistad, por su ayuda y su apoyo incondicional

MIL GRACIAS

INDICE

		Pág.
	Antecedentes	2
	Planteamiento del problema	5
	Justificación	5
	Objetivos	6
	Hipótesis	6
	Material y Métodos	6
	Resultados	8
	Gráficas	14
	Conclusiones	27
	Bibliografía	28

TITULO

RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA EN NIÑOS RECEPTORES DE TRASPLANTE DE CÉLULAS
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS

AUTORES

Investigador principal

MARTÍN PÉREZ GARCÍA

Colaboradores

ALBERTO OLAYA VARGAS

FABIOLA MÚJICA GUZMÁN

Tesista

CONSUELO NAYELIT BARRERA VÁZQUEZ

Especialidad

ONCOLOGÍA PEDIATRICA

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

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

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

Por lo tanto, siempre que existan las condiciones adecuadas, a partir de un determinado número de SC y CPH puede alcanzarse una reconstitución inmunológica y hematológica completas.

Según el **donante**, existen dos modalidades de TCPH, los **Autólogos** y los **Alogénicos**.

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

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

En los **TCPH Autólogos** el paciente actúa como su propio donante, o sea, sus propias CPH después de ser extraídas, conservadas y tratadas adecuadas, son reinfundidas como procedimientos de rescate permitiendo el empleo previo de tratamientos de quimio y radioterapia muy intensivos. (8)

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

En el **TCPH Singénico** el donante es un hermano gemelo univitelino y por tanto HLA idéntico. (8)

INDICACIONES CLINICAS DEL TCPH

Las principales indicaciones son las siguientes:

-Enfermedades Neoplásicas (hematológicas y tumores sólidos) que no sean curables por los agentes citotóxicos a dosis tolerables pero que puedan ser curadas con tratamientos mieloablativos (con alta toxicidad medular). Así, la infusión de CPH reconstruye el sistema hematopoyético, permitiendo la restauración de la actividad hematopoyética a nivel medular. En los TCPH alogénicos existe además un efecto inmunológico antitumoral, contribuyendo a la eliminación de la enfermedad residual mínima. Para estas indicaciones son utilizados tanto los TCPH autólogos como los alogénicos, dependiendo de la enfermedad. El tratamiento previo consiste en quimioterapia con o sin radioterapia a dosis más mieloablativas que lo general. (9-10)

-Enfermedades No Neoplásicas (aplasias medulares, hemopatías congénitas, inmunodeficiencias y otros errores congénitos) en las que o ya no existe una médula funcionante o esta médula no es capaz de producir ciertos elementos celulares sanguíneos en número y función adecuados por defectos genéticos. Para estas indicaciones sólo son utilizados los TCPH alogénicos. (9,10)

RECONSTITUCION INMUNOLOGICA POST-TCPH

La reconstitución del sistema inmune es caracterizada por:

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

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

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

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

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

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

LINFOCITOS T CD4+

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

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

LINFOCITOS T CD8+

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

Son células claves en el periodo inmediato post-TCPH, participan en la lisis de las células infectadas por virus y células tumorales. Su maduración y selección también se realiza en el timo. Las moléculas CD8son glicoproteínas transmembrana y también miembro de la superfamilia de las Ig.

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

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

CELULAS NK

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

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

LINFOCITOS B CD19+

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

FUNCION LINFOCITARIA

La activación o estimulación de los linfocitos "in vitro" nos permite valorar lo que regularmente ocurre cuando el antígeno reacciona con linfocitos específicamente sensibilizados en el huésped. La activación linfocitaria mide la capacidad funcional de los linfocitos T o B para proliferar después de la provocación antigénica y es por lo tanto una prueba más fiable de inmunocompetencia que la sola cuenta de los tipos de linfocitos. Es comúnmente empleada para evaluar la inmunidad celular en los enfermos en inmunodeficiencias, enfermedades infecciosas o enfermedades neoplásicas (15)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es el impacto del tipo de trasplante así como del precursor (allogénico vs autólogo, sangre periférica vs cordón umbilical) en la reconstitución inmunológica en enfermedades hematológicas, oncológicas, inmunodeficiencias y metabólicas?

JUSTIFICACION

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

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

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

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la reconstitución linfocitaria en pacientes con enfermedades neoplásicas y no neoplásicas que han recibido trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Objetivos Específicos

Determinar la reconstitución linfocitaria de células T, B y NK en pacientes con trasplante alogénico vs autólogo, de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica o de cordón umbilical de enfermedades neoplásicas.

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

HIPOTESIS

Evaluar si la reconstitución inmunológica post TCPH depende de la enfermedad de base, del tipo de trasplante realizado y/o de la fuente de los progenitores hematopoyéticos.

El trasplante alogénico brinda una reconstitución inmunológica (células T, B., NK) superior al autólogo.

El uso de sangre periférica o de cordón umbilical no impacta en la reconstitución inmunológica.

La enfermedad de base oncológica, inmunológica, metabólica o hematológica no impacta en el patrón de reconstitución inmunológica.

MATERIAL Y MÉTODO

TIPO DE ESTUDIO

Serie de Casos

POBLACIÓN A ESTUDIAR

Se evaluó la reconstitución inmunológica a los 3, 6, 9 y 12 meses post trasplante en 31 niños receptores de Trasplantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas (TCPH), Autólogo o Alogénico, en cualquiera de sus modalidades en la Unidad de Trasplante de Médula Ósea del Instituto Nacional de Pediatría en el período comprendido entre Enero 2010 y Enero 2011.

POBLACIÓN OBJETIVO

Niños con enfermedades neoplásicas y no neoplásicas que hayan recibido trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en la Unidad de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas de Instituto Nacional de Pediatría

POBLACIÓN ELEGIBLE

Niños que hayan sido atendidos en el servicio de hematología, oncología e inmunología del Instituto Nacional de Pediatría, en el periodo comprendido entre Enero 2010 a Enero 2011.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión

Expedientes de Niños y Niñas

Niños que hayan recibido trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el INP

Niños que tengan diagnóstico de enfermedad neoplásica y no neoplásica

Niños que se hayan valorado en el servicio de hematología, oncología e inmunología del INP

En el periodo de Enero 2010 a Enero 2011

Criterios de Exclusión

Niños a fallecieron antes de cumplir con los 12 meses de seguimiento

VARIABLES A INVESTIGAR

Sexo. Variable Cualitativa Nominal Dicotómica: Hombre/Mujer

Trasplante : Variable Cualitativa Nominal Dicotómica: Alogénico / Autólogo

Precursores Hematopoyéticos: Variable Cualitativa Nominal Dicotómica: Sangre Periférica / Cordón Umbilical

CD3+: Variable Cuantitativa Numérica Discreta: Frecuencia

CD4+: Variable Cuantitativa Numérica Discreta: Frecuencia

CD8+: Variable Cuantitativa Numérica Discreta: Frecuencia

CD4/CD8: Variable Cuantitativa Numérica Discreta: Frecuencia

CD19+: Variable Cuantitativa Numérica Discreta: Frecuencia

CD56+: Variable Cuantitativa Numérica Discreta: Frecuencia

Enfermedades: Variable Cualitativa Nominal Dicotómica: Neoplásicas y No Neoplásicas

ANALISIS ESTADISTICO

Se efectuó un análisis descriptivo univariado de cada variable en cada uno de los periodos de observación

Posteriormente se realizó un análisis bivariado éntrelos parámetros de reconstitución inmunológica y las variables que podían tener algún efecto sobre los mismos.

Dichos análisis se efectuarón mediante pruebas no paramétricas

Por otro lado para estudiar la asociación entre dos variables categóricas se utilizó la X^2 de Pearson

RESULTADOS

La muestra final se conformó por 27 niños, la cual se conformó por los sujetos de estudio que tuvieron las mediciones completas en cada una de las toma de muestra a los 3, 6, 9 y 12 meses. En total, el número de niños con por lo menos una muestra obtenida fue de 31. En algunos análisis, el tamaño de muestra total que se utilizó fue de 31 para tratar de tener el mayor poder estadístico y no desperdiciar las muestras de los niños que fallecieron durante el seguimiento. En la tabla 1 se describen los sujetos que conformaron la muestra final.

Los niños que fallecieron en el seguimiento fueron 4, los cuales aportaron 7 muestras de sangre en total. La tabla 2 muestra que los niños que fallecieron son muy similares a los que completaron el seguimiento. Solamente resultó significativa la prueba T de Student en la media del conteo de CD3 y CD8 en los niños que fallecieron, sin embargo, hay que tomar en cuenta que no sabemos el estado basal de los conteos de las células en ambos grupos y que estas comparaciones deben de tomarse con cautela.

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO n=31				
Variables categóricas		n(%)		
Estado	Fallecido	Vivo		
	4(12.9%)	27(87.09%)		
Sexo	Masculino	Femenino		
	19(61.3%)	12(38.7%)		
Diagnóstico	Hematológico	Neoplasia	Imunodeficiencia	Metabólico
	6(19.3%)	16(51.6%)	6(19.3%)	3(9.7%)
Tipo de trasplante	Autólogo	Alogénico		
	2(6.4%)	29(93.5%)		
Precusores hematopoyéticos	Sangre periférica	Cordón umbilical		
	17(54.8%)	14(45.16%)		
Variable continua		media(±DS)		
Edad en meses		80.7±56.06		
Edad en años		6.69±5.07		
CD3		1220.51±1359.4		
CD4		534.54±827.43		
CD8		619.51±590.83		
Razón CD4/CD8		0.60±0.73		
CD19		11.83±13.52		
CD56		11.96±17.39		

Tabla 1: Existen mayor cantidad de sujetos masculinos que de sujetos femeninos. El diagnóstico más común fue el del tipo neoplásico. La edad promedio de los sujetos fue de 6.7 años, con un rango desde el primer año de vida hasta los 17 años de edad. El tipo más común de trasplante fue el alogénico. El tipo de precursor hematopoyético se distribuyó de manera homogénea. Se describen las mediciones de los subtipos de células como media aritmética y desviación estándar.

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LOS NIÑOS QUE FALLECIERON n=4					
Variables categóricas		n(%)			
Sexo	Masculino	Femenino			
	3(75%)	1(25%)			
Diagnóstico	Hematológico	Neoplasia	Inmunodeficiencia	Metabólico	
	1(25%)	2(50%)	0(0%)	1(25%)	
Tipo de trasplante	Autólogo	Alogénico			
	1(25%)	3(75%)			
Precusores hematopoyéticos	Sangre periférica	Cordón umbilical			
	3(75%)	1(25%)			
Variable continua		media(±DS)			
Edad en meses		88.66±83.71			
Edad en años		5.22±3.59			
CD3		2909.5±2616.8*			
CD4		1381.8±1480.2			
CD8		1516±1357.6*			
Razón CD4/CD8		0.56±0.669			
CD19		30.3±42.1			
CD56		16.75±22.67			
*p < 0.05 Vs grupo de niños con seguimiento completo.					

Tabla 2: Esta tabla caracteriza los niños que fallecieron a lo largo del seguimiento de 12 meses. Esto con el fin de medir si eran diferentes a los niños que completaron la muestra final de análisis de 27. Son muy similares las características de este subconjunto en comparación con la muestra final. Solamente resultaron significativos los conteos de CD3 y CD8 con respecto a la muestra de 27 sujetos. Esta comparación se hizo de manera general sin tomar en cuenta el tiempo de seguimiento.

ANÁLISIS BIVARIADO:

Se decidió estratificar por tipo de precursor hematopoyético por la razón de que esta variable parte prácticamente en dos la muestra y esto aumentaría la probabilidad de encontrar diferencias significativas. Se utilizaron pruebas de diferencia de medias de una muestra simple. A continuación se enlistan las tablas que muestran la frecuencia de conteo de las células por cepa de linfocito y por tipo de precursor hematopoyético.

TABLA 3									
Variables y parámetros		Mediciones							
D3	Grupos	3 meses		6 meses		9 meses		12 meses	
		0.05		0.82		0.58		0.89	
		n	media	n	media	n	media	n	media
precursor	Sangre periférica	17	(797.1±524.8)	17	(1221.3±1004.9)	17	(975.6±947.3)	17	(1097±972.7)
	Cordón umbilical	14	(1734.6±1845.7)	14	(1144.9± 812.4)	14	(1145.7±750)	14	(1138.3±782.1)

Tabla 3: Se muestran los valores promedio con su desviación estándar de células CD3 estratificados por tipo de precursor. Solamente se observa diferencia estadística significativa en la medición a los 3 meses entre los grupos. En el seguimiento posterior no se observan diferencias entre las medias este tipo de células.

TABLA 4									
Variables y parámetros		Mediciones							
D4:	Grupos	3 meses		6 meses		9 meses		12 meses	
		0.06		0.87		0.21		0.32	
		n	media	n	media	n	media	n	media
precursor	Sangre periférica	17	(282.4±39.5)	17	(460.3±107.7)	17	(335.9±77.5)	17	(385.1±81.6)
	Cordón umbilical	14	(534.5±148.6)	14	(485.9±117.9)	14	(501.1±108.7)	14	(527.2±122.6)

Tabla 4: Se muestran los valores promedio con su desviación estándar de células CD4 estratificados por tipo de precursor. Solamente se observa diferencia estadística significativa en la medición a los 3 meses entre los grupos. En el seguimiento posterior no se observan diferencias entre las medias este tipo de células.

TABLA 5									
Variables y parámetros		Mediciones							
D8	por p	3 meses		6 meses		9 meses		12 meses	
		0.13		0.55		0.85		0.61	
ursor	Sangre periférica	n	media	n	media	n	media	n	media
			Cordón umbilical	17	(474.9±96.1)	17	(727.1±172.)	17	(620.8±160.1)
		14	(795±198.5)	14	(602.5±99.9)	14	(584±97.7)	14	(576.7±114.4)

Tabla 5: Se muestran los valores promedio con su desviación estándar de células CD8 estratificados por tipo de precursor. No se observan diferencias estadísticamente significativas en la medición a los 3 meses entre los grupos. En el seguimiento posterior no se observan diferencias entre las medias este tipo de células.

TABLA 6									
Variables y parámetros		Mediciones							
D19	por p	3 meses		6 meses		9 meses		12 meses	
		0.24		0.24		0.11		0.15	
ursor	Sangre periférica	n	media	n	media	n	media	n	media
			Cordón umbilical	17	(9.2±2.8)	17	(19.2±4.3)	17	(17.3±4.2)
		14	(15±4)	14	(26.5±4.1)	14	(26.1±3.1)	14	(26.1±2.9)

Tabla 6: Se muestran los valores promedio con su desviación estándar de células CD19 estratificados por tipo de precursor. No se observan diferencias estadísticamente significativas en la medición a los 3 meses entre los grupos. En el seguimiento posterior no se observan diferencias entre las medias este tipo de células.

TABLA 7									
Variables y parámetros		Mediciones							
D56	por p	3 meses		6 meses		9 meses		12 meses	
		0.24		0.41		0.26		0.43	
ursor	Sangre periférica	n	media	n	media	n	media	n	media
			Cordón umbilical	17	(8.6±4)	17	(12.8±3.8)	17	(11.9±4.5)
		14	(16±4.7)	14	(17.4±3.7)	14	(18.5±3.1)	14	(13.3±2.6)

Tabla 7: Se muestran los valores promedio con su desviación estándar de células CD56 estratificados por tipo de precursor. No se observan diferencias estadísticamente significativas en la medición a los 3 meses entre los grupos. En el seguimiento posterior no se observan diferencias entre las medias este tipo de células.

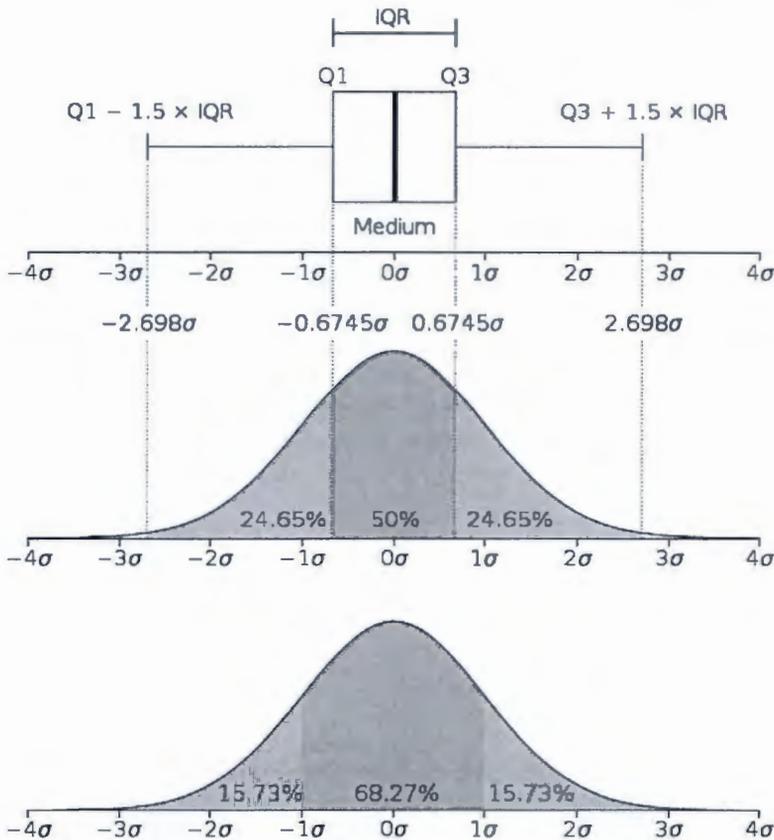
TABLA 8

Variables y parámetros		Mediciones							
		3 meses		6 meses		9 meses		12 meses	
CD4/CD8	Valor p	0.38		0.21		0.03		0.12	
		n	media	n	media	n	media	n	media
recursor	Sangre periférica	17	(0.7±0.2)	17	(0.1±0.1)	17	(0.05±0.04)	17	(0.16±0.08)
	Cordón umbilical	14	(0.5±0.1)	14	(0.3±0.1)	14	(0.32±0.13)	14	(0.4±0.14)

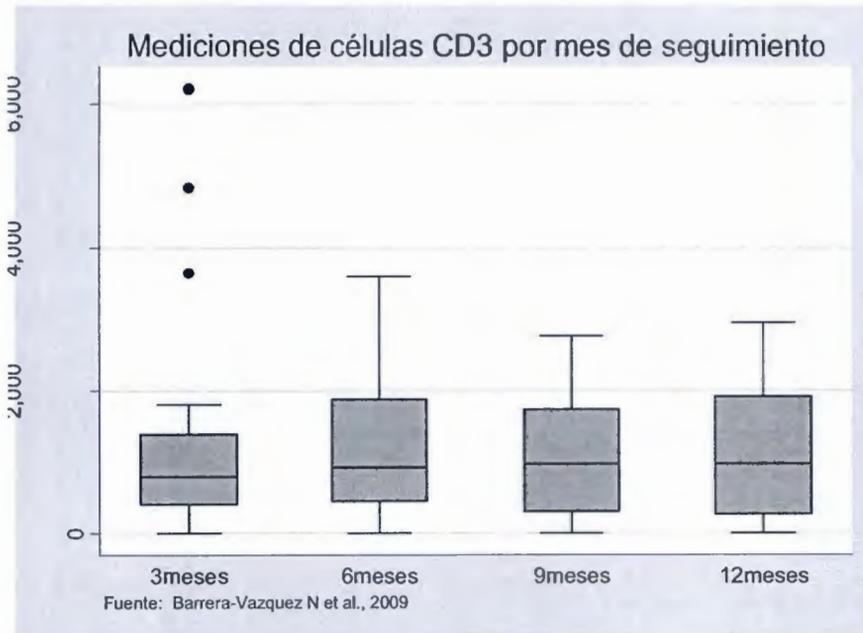
Tabla 8: Se muestran los valores promedio con su desviación estándar del índice de células CD4/CD8 estratificados por tipo de precursor. No se observan diferencias estadísticamente significativas en la medición a los 3 meses entre los grupos. En el seguimiento posterior no se observan diferencias entre las medias este tipo de células.

GRAFICAS

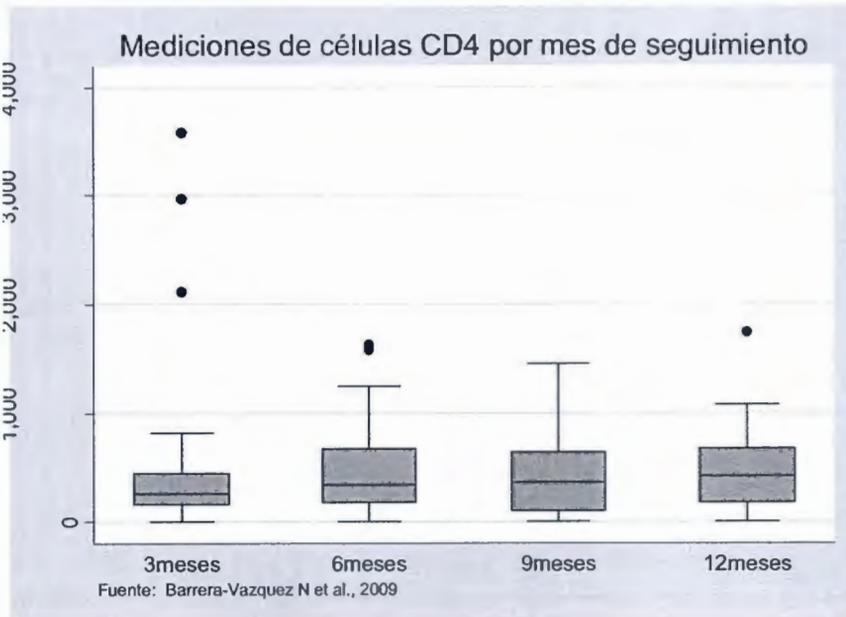
A continuación se muestran las gráficas que se realizaron con los 27 sujetos de la muestra final. La justificación de utilizar gráficas de caja, también conocidas como box plots o de bigotes, es por la riqueza de información que se puede mostrar en una sola lámina. La manera de interpretarla de acuerdo a una distribución que se aproxima a una normal se muestra en el siguiente gráfico:



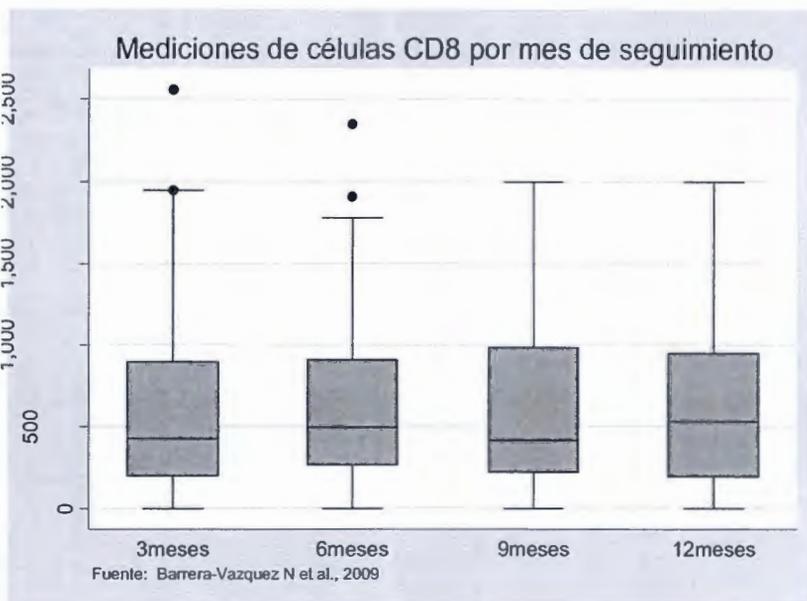
Dado el número reducido de sujetos en la muestra y que eso puede afectar la media aritmética, las gráficas de caja muestran la medida de tendencia central que no se afecta por el tamaño de muestra y permite mejores comparabilidades entre subgrupos; la mediana o también conocido como percentil 50. Además, esto permite prescindir de pruebas estadísticas entre las barras, ya que se muestra la distribución de la variable en sí. En algunas de las gráficas siguientes se muestran los valores extremos (outliers) fuera de los bigotes de la gráfica de caja.



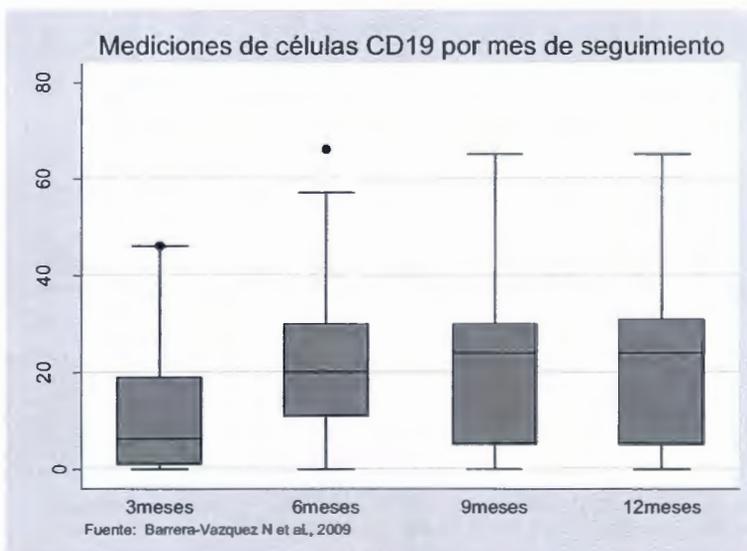
GRAFICA 1. Diagrama de caja del conteo de células CD3 por mes de seguimiento.



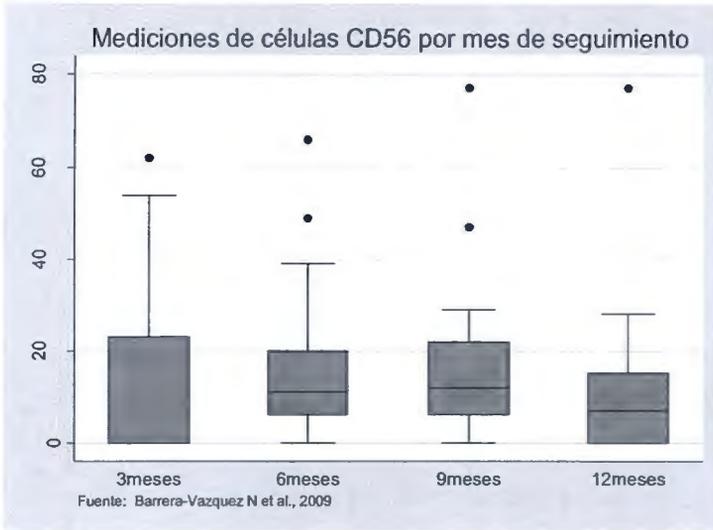
GRAFICA 2. Diagrama de caja del conteo de células CD4 por mes de seguimiento.



GRAFICA 3. Diagrama de caja del conteo de células CD8 por mes de seguimiento.

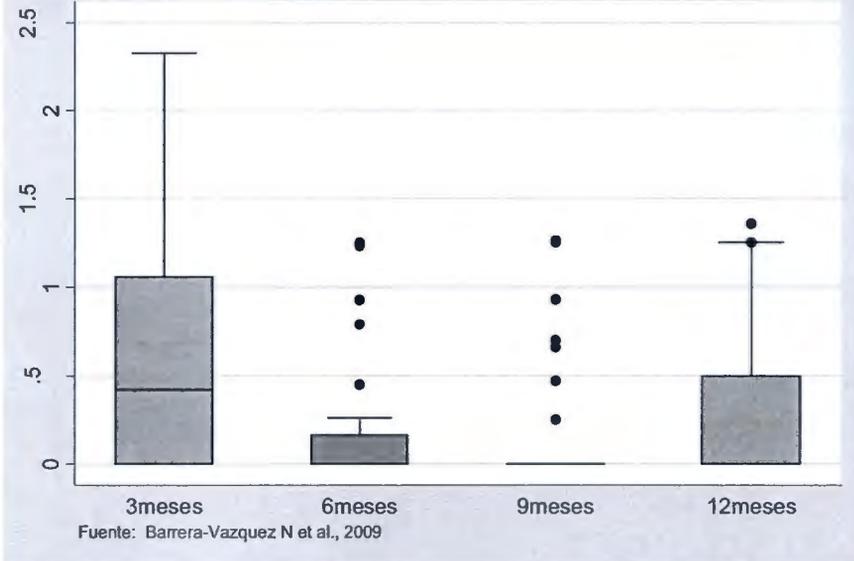


GRAFICA 4. Diagrama de caja del conteo de células CD19 por mes de seguimiento.



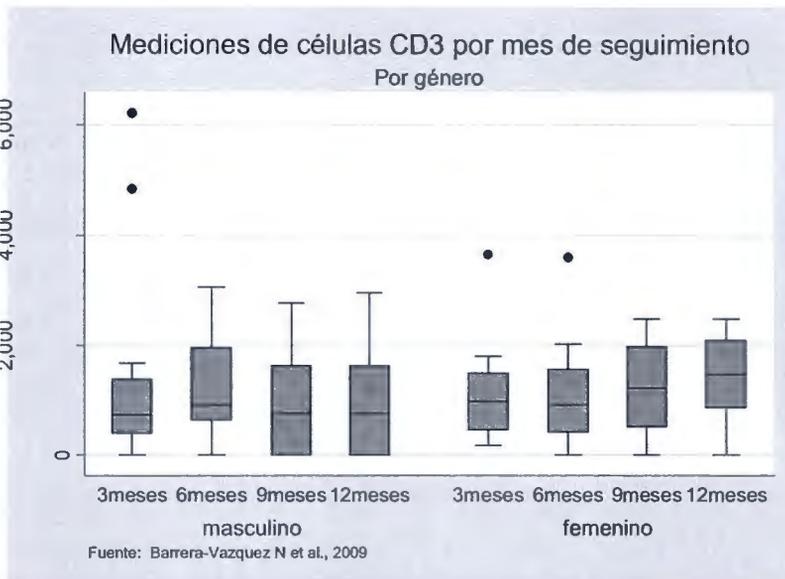
GRAFICA 5. Diagrama de caja del conteo de células CD56 por mes de seguimiento.

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

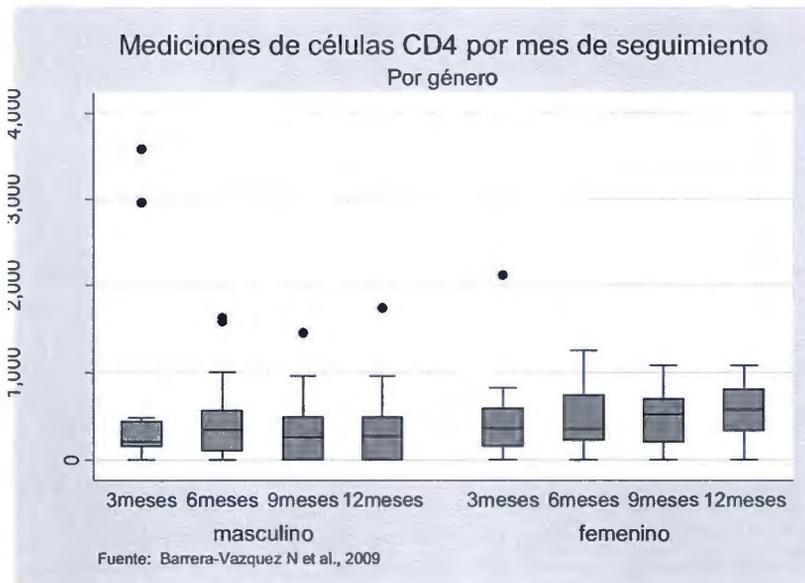


GRAFICA 6. Diagrama de caja del conteo de indice de células CD4/CD8 por mes de seguimiento.

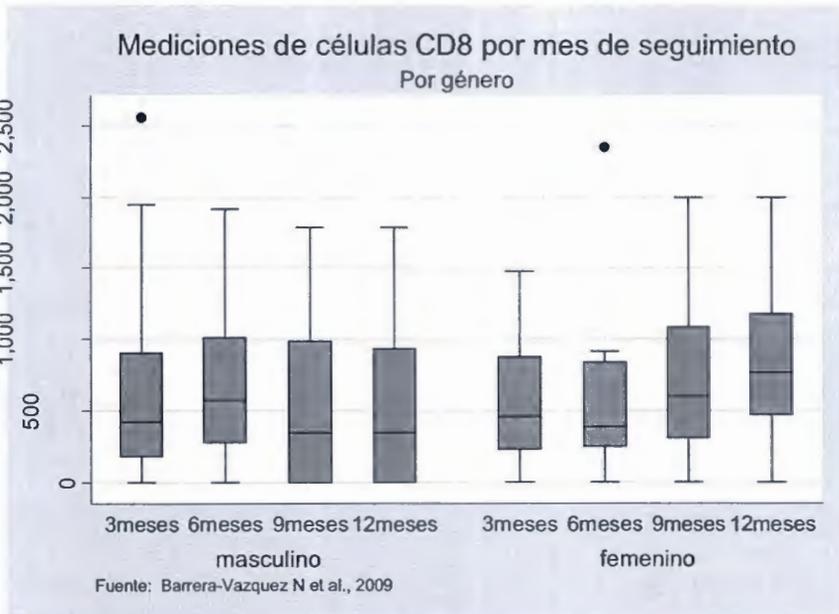
GRÁFICAS POR GÉNERO



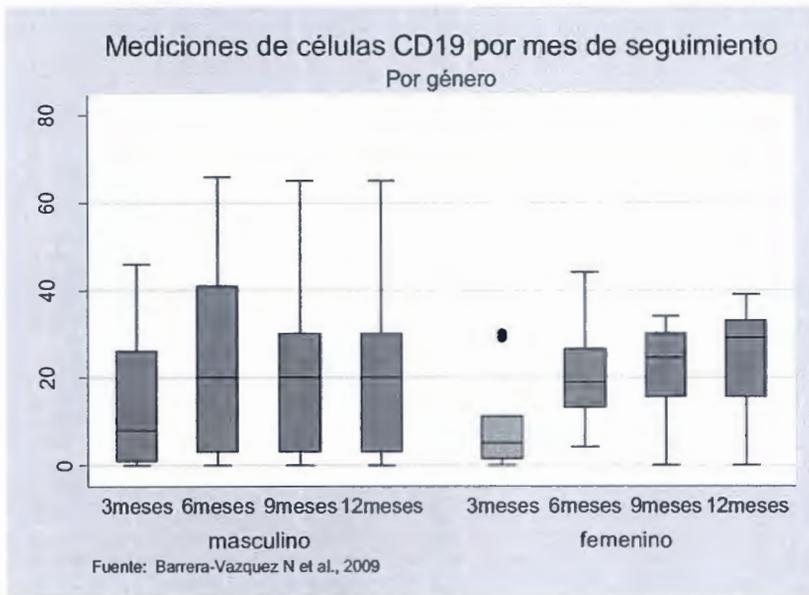
GRAFICA 7. Diagrama de caja del conteo de células CD3 por mes de seguimiento y género.



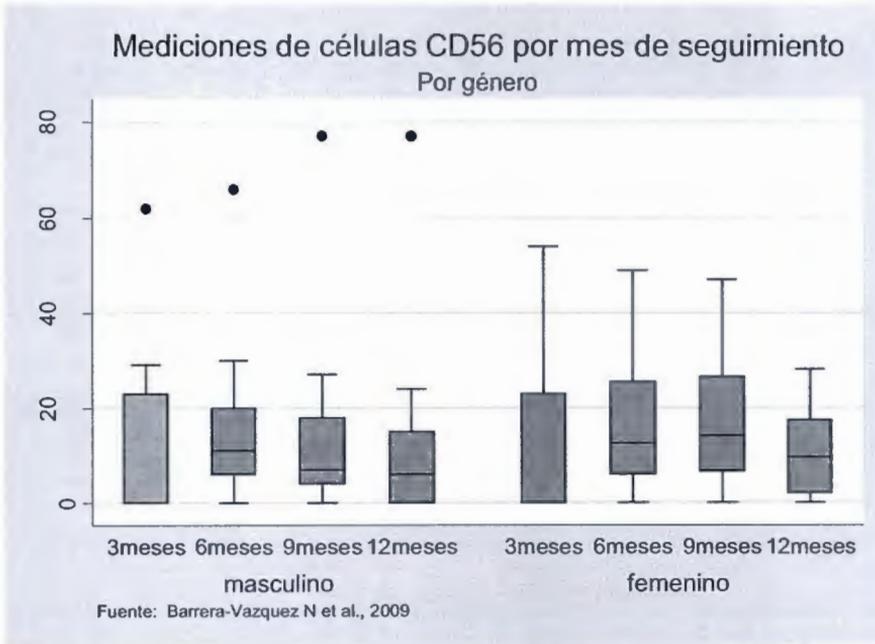
GRAFICA 8. Diagrama de caja del conteo de células CD4 por mes de seguimiento y género.



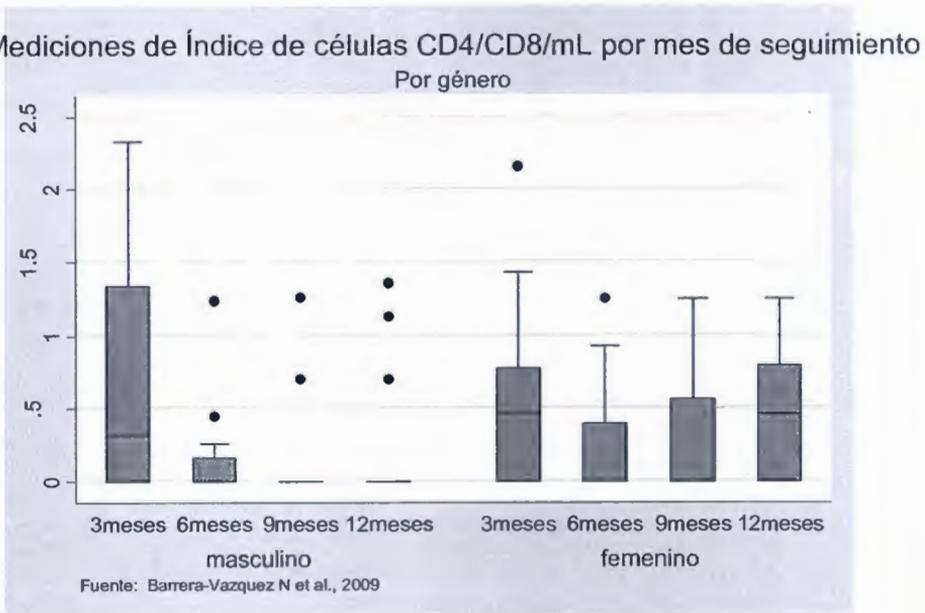
GRAFICA 9. Diagrama de caja del conteo de células CD8 por mes de seguimiento y género.



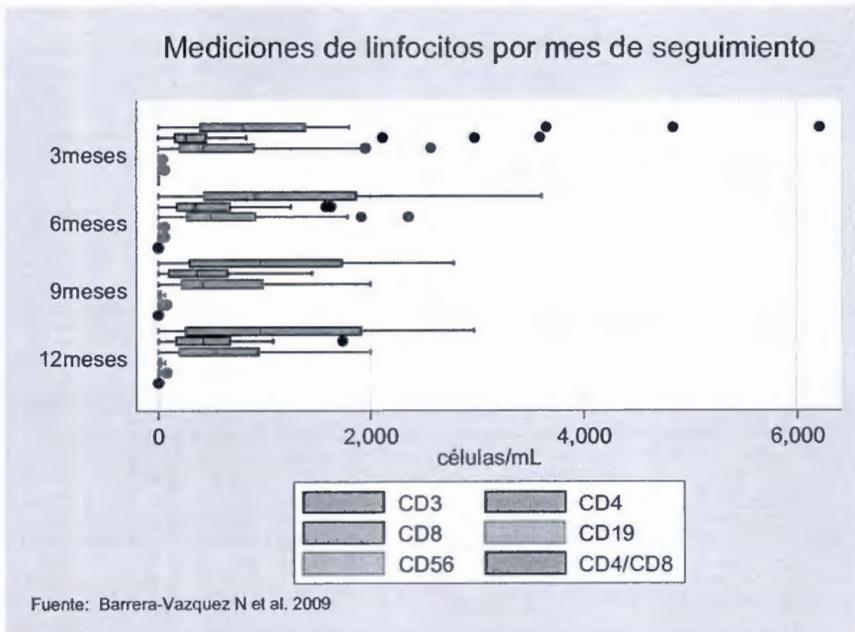
GRAFICA 10. Diagrama de caja del conteo de células CD19 por mes de seguimiento y género.



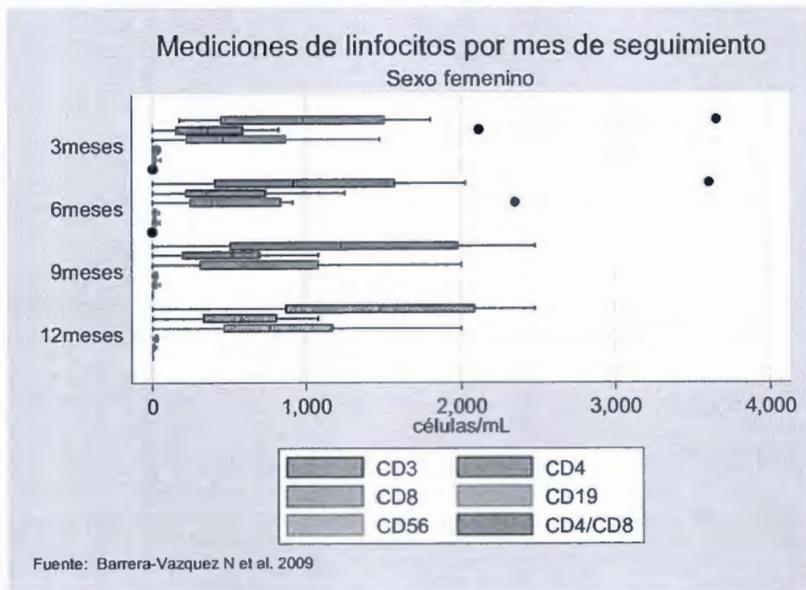
GRAFICA 11. Diagrama de caja del conteo de células CD56 por mes de seguimiento y género.



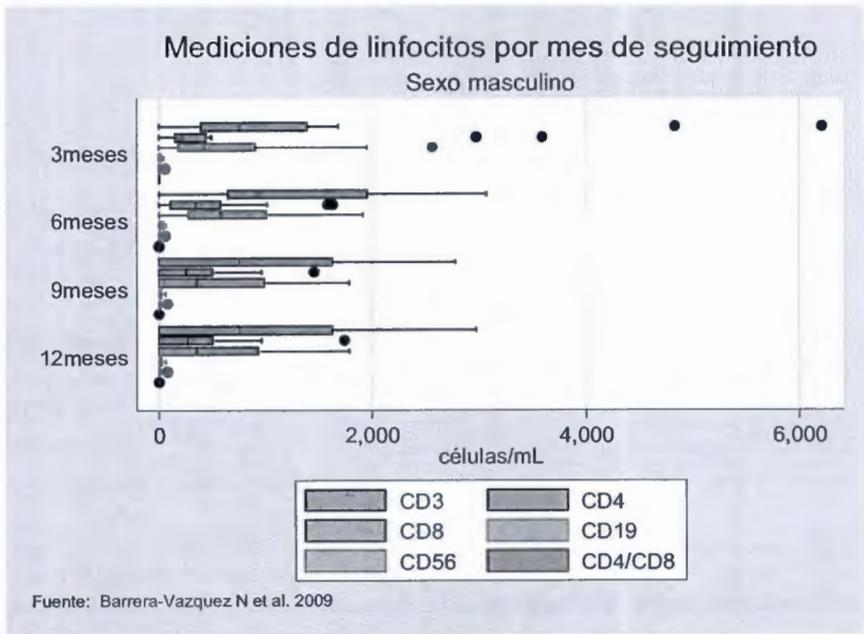
GRAFICA 12. Diagrama de caja del conteo de índice de células CD4/CD8 por mes de seguimiento.



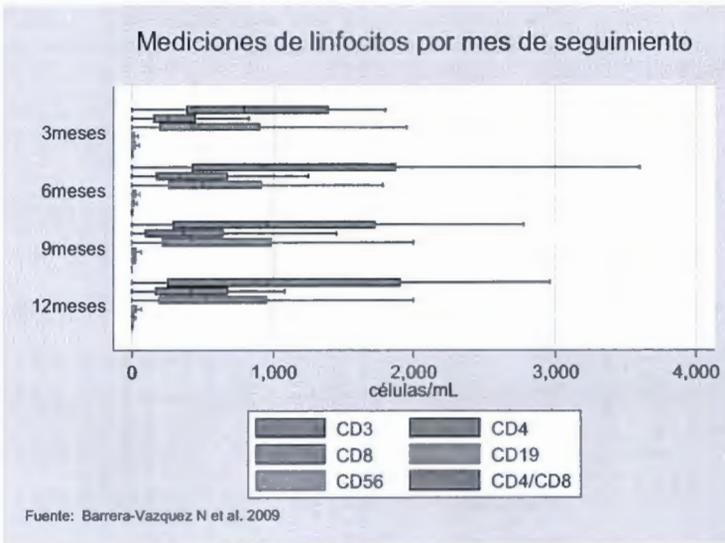
GRAFICA 12. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos.



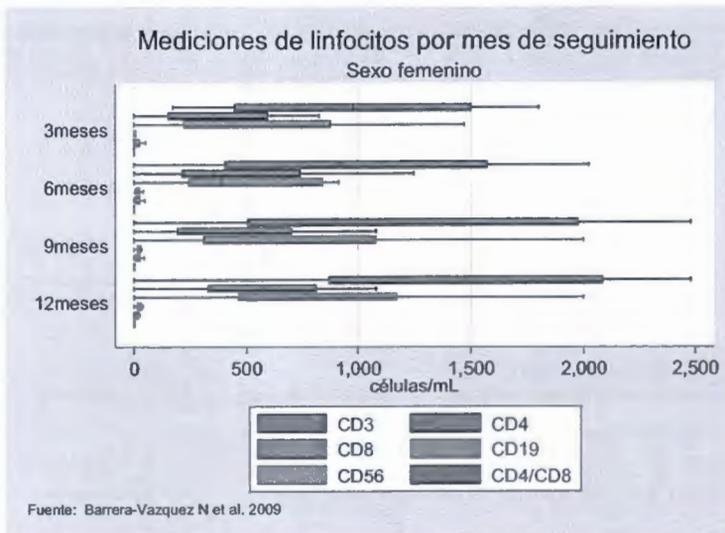
GRAFICA 13. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos en niñas.



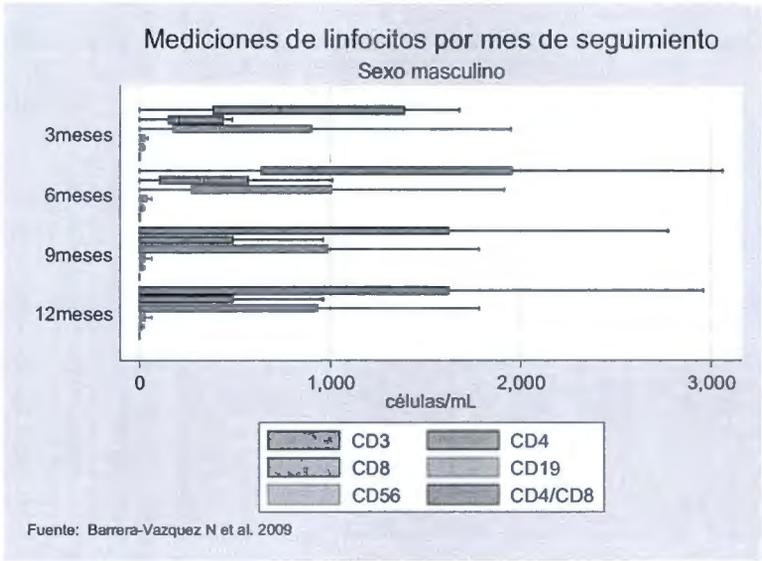
GRAFICA 14. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos en niños.



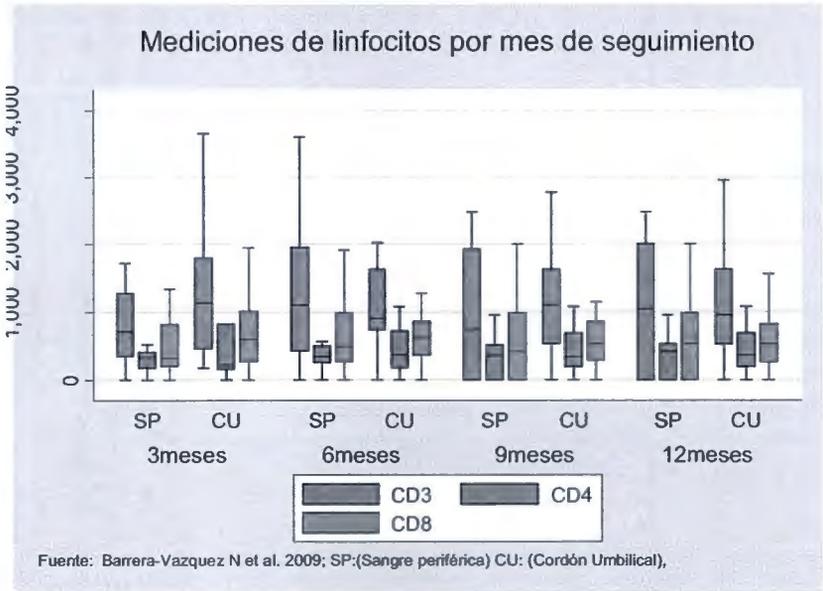
CA 15. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos sin valores extremos.



A 16. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos sin valores extremos en niñas.

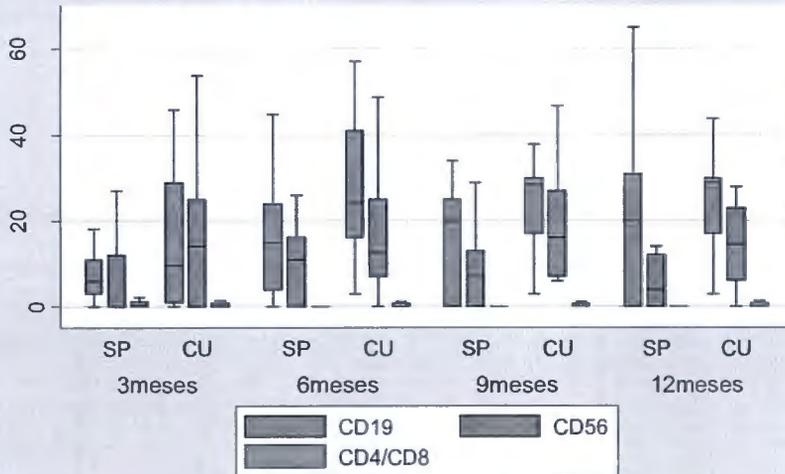


17. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos sin valores extremos en niños.



CA 18. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos por tiempo de medición y precursor hematopoyético.

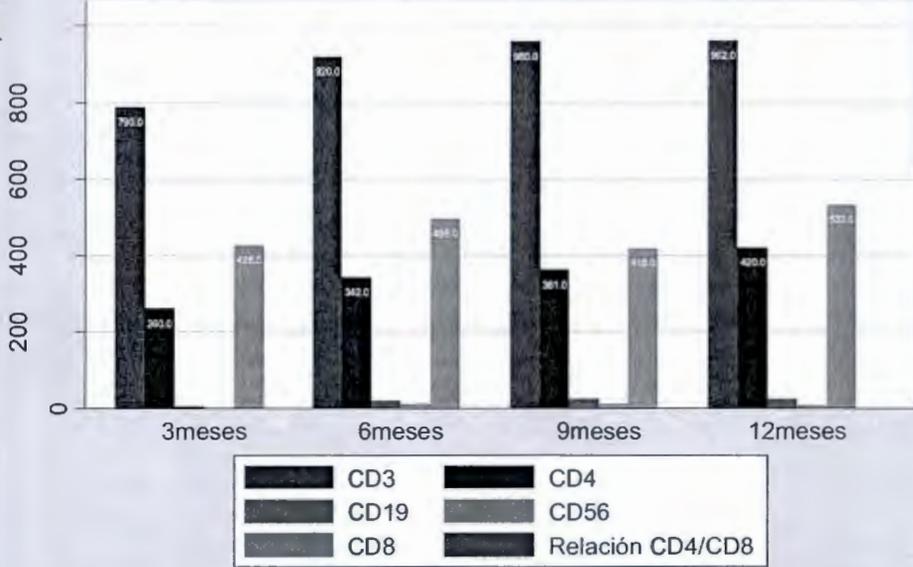
Mediciones de linfocitos por mes de seguimiento



Fuente: Barrera-Vazquez N et al. 2009; SP:(Sangre periférica) CU: (Cordón Umbilical),

CA 19. Diagrama agrupado de gráficas de caja del conteo de linfocitos por cepas de linfocitos por tiempo de medición y precursor hematopoyético.

Mediana de linfocitos por mes de seguimiento



Fuente: Barrera-Vazquez N et al. 2009

GRAFICA 20. Gráfica de medianas de linfocitos por tipo de linfocito y tiempo de seguimiento.

DESCRIPCION RESUMIDA DE LOS RESULTADOS

Como se mencionó, la muestra total se compuso por 27 niños. Los cuales están caracterizados en la tabla 1. La mayoría fueron del sexo femenino, y del tipo de trasplante autólogo. La frecuencia del precursor hematopoyético se distribuyó casi de manera equitativa en toda la muestra. El grupo de edad más común fue el de los escolares. El diagnóstico más común fue el de las neoplasias. La tabla 2 caracteriza los niños que fallecieron durante el seguimiento. Al compararlos con el grupo de niños con seguimiento completo, fue muy similar a los 4 niños que fallecieron. Solo se encontraron diferencias en el conteo medio de células CD3 y CD8. En el análisis bivariado, se realizaron tablas que muestran las mediciones de los grupos de células por mes de seguimiento. Se ajustó por tipo de precursor hematopoyético dado su distribución homogénea de dicha variable, en otras palabras, el tipo de precursor divide la muestra total de niños con seguimiento completo en grupos casi iguales. Se observan discretas diferencias en las pruebas de diferencia de medias (t de student) a lo largo de las mediciones repetidas. Solamente las células CD3 y CD4 alcanzaron diferencia significativa en la medición a los 3 meses entre tipo de precursor. De manera interesante, los niveles de células, independientemente el tipo, se igualan a lo largo de las demás mediciones. Las figuras 15, 16 y 17 demuestran que, proporcionalmente, las células CD3 son las de mayor cantidad.

Dada la muestra pequeña, se graficaron las medianas (percentil 50) para corroborar los hallazgos en el análisis bivariado, solo se observa una discreta tendencia de lo CD3 a aumentar con el tiempo sin ser estadísticamente significativa (p de 0.58). Las gráficas 17 y 18 ajustan por tipo de precursor, en los linfocitos que clínicamente pueden ser más relevantes.

CONCLUSIONES

Con los datos de este estudio longitudinal, parece no haber efecto del tipo de precursor hematopoyético, genero, en el conteo de células linfocíticas de (medula o sangre periférica?) A lo largo de 12 meses de seguimiento post-trasplante. En niños atendidos en el servicio de oncología pediátrica del Instituto Nacional de Pediatría en la Ciudad de México, DF.

BIBLIOGRAFIA

1. Good RA. Early studies in transplantation biology: discovery of two separate systems of immunity. In Johnson FL, Pochedly C, eds. *Bone Marrow Transplantation in Children*. Raven Press, Ltd. New York. 1990: 1-15.
2. Ortega JJ, Olivé T, Díaz de Heredia C, et al. Trasplante de médula ósea en pediatría. *Annal Esp Pediatr* 1996; 82 (libro de actas I):77-80.
3. Sanders JE. Bone marrow transplantation in pediatric oncology. In Pizzo PA, Poplack DG (eds). *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Third Edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. 1997: 357-373.
4. Sanders JE. Bone Marrow Transplantation for Pediatric Malignancies. *Pediatr Clin North Am* 1997; 44: 1005-1020.
5. Pinkel Donald. Bone Marrow Transplantation in Children. *J Pediatr* 1993; 122: 331-341.
6. Celada A. Origen de las células del sistema inmunitario. In: *Inmunología Básica*. Celada A. Editorial Labor, S.A. 1994: 43-74.
7. Ramírez M, Civin CA. Fisiología de Hematopoyesis. In Madero L, Muñoz A. *Hematología y Oncología Pediátricas*. Ediciones Ergon, S.A. 1997: 1-19.
8. Long GD, Blume KG: Allogeneic and autologous marrow transplantation. In Williams. *Hematology*. Fifth edition. McGraw-Hill, Inc. 1995: 172-194.
9. Robertson KA. Trasplante de Médula Ósea. In Nelson. *Tratado de Pediatría*. Mc Graw-Hill Interamericana. 15ª Edición. 1997; 132: 750-763.
10. Madero L, Muñoz A, Díaz MA. Trasplante de progenitores hematopoyéticos en hematología pediátrica. In: Madero L, Muñoz A. *Hematología y Oncología Pediátricas*. Ediciones Ergon, S. A. 1997: 309-344.
11. Parkman R, Weinberg KI. Immunological Reconstitution Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, eds. *Hematopoietic Cell Transplantation*. 2nd ed. Malden, MA: Oxford University Press; 1998: 704-711.
12. Lenarsky C. Immune recovery after bone marrow transplantation. *Curr Opin Hematol* 1995; 2: 409-412.
13. Small TN. Immunologic Reconstitution following stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* 1996; 3: 461-465.
14. Otinger HD, Beelen DW, Scheulen B, et al. Improved Immune Reconstitution After Allogeneic Transplantation of Peripheral Blood Stem Cells Instead of Bone Marrow. *Blood* 1996; 88: 2275-2279.
15. Verma U, Mazumder A. Immune Reconstitution following bone marrow transplantation. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37: 351-360.