

Mesa Redonda: Problemas éticos y legales en Pediatría

Bancos de cordón umbilical

L. MADERO

Jefe del Servicio de Oncohematología y Trasplante Hematopoyético. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid.

INTRODUCCIÓN

La utilización de sangre de cordón como fuente de precursores hematológicos se remonta a 1983 cuando Boyse apuntó el potencial en progenitores existente en la sangre de cordón, realizándose un año más tarde las primeras experiencias sobre modelos murinos. Tuvieron que pasar más de cinco años para que Gluckman realizara la primera experiencia en humanos. Un niño afecto de anemia de Fanconi fue trasplantado con progenitores de sangre de cordón umbilical de su hermana HLA idéntica, realizándose todos los estudios de compatibilidad intraútero. Actualmente, veinte años más tarde, el paciente se encuentra libre de enfermedad y con la hematopoyesis del donante, demostrándose así la capacidad de persistencia del injerto a largo plazo.

Desde entonces, se han realizado más de 10.000 trasplantes con esta fuente de precursores y para muchos esta técnica se ha consolidado como una alternativa a la médula ósea.

CARACTERÍSTICAS DE LA SANGRE DE CORDÓN

El primer sistema hematopoyético en el feto se inicia en la fase embrionaria, localizándose en la zona preaórtica y en el saco vitelino. Posteriormente se localizará en el hígado, instalándose definitivamente en la médula ósea a finales del segundo trimestre, quedando este órgano como único y fundamental foco mieloide. En las fases finales del desarrollo fetal existen en circulación un número importante de precursores hematopoyéticos, en forma de unidades for-

madoras de colonias en todas sus líneas (CFU-GM, CFU-GEMM, CFU-MK) y de colonias iniciadoras de cultivos a largo plazo (LTCIC), existiendo la posibilidad de obtenerlos a través de los vasos fetales placentarios del cordón umbilical. Estos precursores se encuentran en mayor proporción que en la sangre periférica y son capaces de mantenerse en cultivos celulares a largo plazo e igualmente reconstituir la hematopoyesis.

Los progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón (SCU) tienen una diferente composición respecto a los de la médula ósea (MO) y a los de sangre periférica (SP). Aunque el número de CD34+ en la SCU es similar al de la MO (1%), existe un mayor porcentaje de progenitores inmaduros (CD34+ CD38-) que en la MO o que en la SP movilizada. El comportamiento biológico es igualmente diferente y así los cultivos celulares de SCU perduran más en el tiempo y tienen una mayor capacidad de expansión de células CD34+ así como de formación de CFU-GM.

En el recién nacido existe una hematopoyesis inmadura y una disregulación en la respuesta inmune que condiciona una mayor susceptibilidad a infecciones. Se ha demostrado un descenso significativo de diferentes citoquinas y linfoquinas en la SCU en comparación con la SP del adulto. Algunas citoquinas tales como G-CSF, GM-CSF, IL-3, M-CSF, así como reguladores de la hematopoyesis como el factor transformador del crecimiento $\beta 1$ y la proteína inhibidora de macrófagos 1α están significativamente descendidos en relación a la SP del adulto.

Hay un significativo descenso de la expresión del RNA de células mononucleares de la SCU en comparación con la SP. Por el contrario, la expresión y producción de IL-11, SCF y trombopoyetina están significativamente aumentadas

en las células de la SCU en comparación con la existente en fibroblastos y células endoteliales. Esta inmadurez de la hematopoyesis neonatal puede condicionar una más fácil reconstitución hematopoyética.

OBTENCIÓN DE LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Se utilizarán bolsas de hemodonación, con un anticoagulante apropiado y un sistema cerrado de recolección para reducir los riesgos de contaminación de células maternas así como de contaminación bacteriana.

Los sistemas abiertos, aunque técnicamente más sencillos, tienen el inconveniente de un mayor riesgo infeccioso.

La SCU se puede obtener tras la ligadura del cordón, en los 35 segundos posteriores al nacimiento del niño, mientras la placenta permanece aún en el útero, recogiendo la sangre por gravedad y tras la expulsión de la placenta mediante la expresión del cordón. Es posible también realizar la recogida una vez que la placenta ha sido expulsada mediante la canalización de la vena umbilical, aspirando a través una jeringuilla tras inyectar una solución salina heparinizada. En otros casos se puede inyectar una solución heparinizada por la arteria umbilical y aspirar con otra jeringuilla por la vena. Este procedimiento consigue aumentar el rendimiento tanto en volumen como en el número de células nucleadas conseguidas.

El volumen de una unidad de SCU oscila de 42 a 240 ml y el número total de células nucleadas varía entre $4,7 \times 10^8$ y $4,6 \times 10^9$.

Podrán ser subsidiarios de donación todos los cordones obtenidos de partos normales con controles serológicos negativos en la madre durante el embarazo. No deberán existir antecedentes maternos o paternos que supongan un riesgo de transmisión de enfermedades genéticas o infecciosas a través del cordón.

PROCESAMIENTO

Una vez obtenida la SCU ésta podrá ser almacenada a 4°C durante 24 horas, hasta que sea llevada al lugar del procesamiento. Serán transportadas a temperatura ambiente y deberán ser criopreservadas durante las siguientes 24 horas.

La SCU podrá ser criopreservada de diversas formas atendiendo a criterios técnicos y del propio centro de procesamiento. Puede criopreservarse en forma de sangre total, desplasmatizada o sedimentada en gelatina o producto simi-

lar. El crioprotector más utilizado es el dimetilsulfósido, siguiendo la misma metodología de congelación que la que se utiliza en los casos de MO o SP.

En todas las unidades de SCU se deberán realizar unos controles biológicos (grupo ABO, Rh, células nucleadas totales, mononucleares totales, volumen), cuantificación de los progenitores mediante citometría de flujo o cultivos clonogénicos en metilcelulosa, estudios de control de esterilidad (cultivos microbiológicos del producto antes de la congelación) así como serológicos maternos (VIH, CMV, HbsAg, HCV, toxoplasma, sífilis, HIV-1, HIV-2).

Todas las unidades serán tipadas para HLA A y B por serología o por genética molecular y el DRB1 por métodos de genética molecular. El seguimiento postparto no es imprescindible y cuando se realiza estará encaminado a detectar tanto enfermedades infecciosas como enfermedades genéticas que no pudieran ser detectadas en el momento del parto.

POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS

La recolección y almacenamiento a gran escala de los progenitores de SCU aporta una opción terapéutica a muchos pacientes que no disponen de donante HLA idéntico de MO o de SP. La falta de riesgos para el donante permite aumentar el número de donantes y encontrar una mayor representación de ciertas minorías étnicas. Así mismo, se acorta el tiempo de búsqueda de progenitores hematopoyéticos de donante no emparentado. Esto es de gran importancia en pacientes con enfermedades con alto riesgo de muerte por progresión o por infección concomitante, como es el caso de las leucemias de alto riesgo, las anemias aplásicas graves o las inmunodeficiencias combinadas severas.

Aunque los resultados clínicos obtenidos hasta el momento no son concluyentes, existen una serie de inconvenientes en la utilización de esta fuente de progenitores: 1) La menor incidencia de EICH inicialmente descrita podría llevar asociado un aumento del riesgo de recaída (por ausencia de efecto injerto contra leucemia); 2) Existe la posibilidad de transmisión de enfermedades genéticas no detectadas en el donante; 3) Sólo se dispone de una unidad de progenitores para cada paciente; y 4) El número de progenitores puede ser insuficiente en pacientes de peso elevado. Estos inconvenientes han determinado que la mayor experiencia en este tipo de trasplantes se haya obtenido en niños aunque haya algunos estudios en adultos. En la tabla I se recogen estas ventajas e inconvenientes.

TABLA I. VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL USO DE LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL COMO FUENTE DE PROGENITORES PARA EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO

Ventajas de la sangre de cordón

- 1) Fácil recolección y almacenamiento.
- 2) Ausencia de riesgos para el donante, bajo riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas virales.
- 3) Localización del donante más rápida y capacidad de expansión de progenitores hematopoyéticos.
- 4) Una alta frecuencia de injerto y bajo riesgo de EICH agudo severo incluso con diferencias HLA.
- 5) Posibilidad de encontrar donantes para minorías étnicas, cosa que con médula ósea es difícil.

Desventajas de la sangre de cordón

- 1) Sólo se puede disponer de una unidad para cada procedimiento de trasplante.
 - 2) Posibilidad de transmisión de enfermedades congénitas no detectables en la historia familiar.
 - 3) Sólo existe experiencia importante en niños con peso inferior a 40-50 kilos, aunque se han realizado algunos en adultos.
 - 4) El menor grado de EICH puede conllevar un menor efecto injerto contra leucemia.
 - 5) Aspectos éticos aún no esclarecidos.
-

CONCLUSIONES

La sangre de cordón umbilical es una fuente de progenitores hematopoyéticos válida para los trasplantes con donantes familiares así como en los no emparentados.

La recuperación de neutrófilos es similar en el trasplante de SCU y en el TMO con donante no emparentado mientras que el injerto plaquetario se retrasa más en el trasplante de SCU quizás por tener la SCU una mayor proporción de progenitores hematopoyéticos inmaduros. Aunque se ha constatado injerto leucoplaquetario en algunos casos a los que se les infundieron un escaso número de células nucleadas, se recomienda un número mínimo de 1×10^7 células nucleadas por kg de receptor.

La incidencia y severidad de la EICH en los casos de trasplantes con donantes no emparentados fue moderada y la respuesta a la terapia esteroidea fue favorable. Esta menor incidencia de EICH podría depender de varios factores: 1) De la corta edad de los donantes y receptores; 2) De la ausencia de inmunización previa o de activación de las células del donante; y 3) De las características propias de la SCU que posee células linfoides inmaduras, que determinan una respuesta citotóxica disminuida así como una menor alorreactividad.

Las características hematopoyéticas e inmunológicas de la SCU podrían determinar que fueran fuente para la expansión de progenitores hematopoyéticos y emplearse también como vehículo para terapia génica.

Quedan aún varias cuestiones pendientes por solucionar: la posibilidad de selección de células de SCU con capacidad de prendimiento estable y la posibilidad de expansión *in vitro* de estas células, establecer el papel de la contaminación de la SCU por células maternas y la comprobación clínica de la persistencia del efecto injerto contra leucemia a pesar de la disminución de EICH, así como algunas otras cuestiones éticas y legales.