

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**FACTORES OBSTÉTRICOS Y NEONATALES QUE AFECTAN LA
RECOLECCIÓN DE CÉLULAS MADRE DE SANGRE DE CORDÓN
UMBILICAL**

JORGE LUIS VIVAR AGUIRRE

Tesis de grado presentada como requisito para la
Obtención del título de Médico General

Quito

Junio de 2007

**Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias de la Salud**

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**FACTORES OBSTÉTRICOS Y NEONATALES QUE AFECTAN LA
RECOLECCIÓN DE CÉLULAS MADRE DE SANGRE DE CORDÓN
UMBILICAL**

JORGE LUIS VIVAR AGUIRRE

Dr. Marco Fornasini
Director de la Tesis

Dr. Marco Fornasini
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Mauricio Espinel
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Carlos Castillo
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Enrique Noboa
Decano del Colegio de Ciencias de la Salud

Quito, junio de 2007

© Derechos de autor
Jorge Vivar Aguirre
2007

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo a toda mi familia, fueron ellos quienes hicieron posible que llegue hasta estas instancias.

Mi padre Jorge Oswaldo, que con sus oportunos consejos supo cultivar en mí un deseo de aprendizaje y superación.

Mi madre Carmen Josefina que constantemente ha sido un pilar importante en mi vida.

Mis hermanos María Del Carmen, Daniel Agustín y Ana Isabel por siempre estar ahí para demostrarme que a pesar de todo la vida continua.

Agradecimientos

Una vez más quiero mencionar a mi familia, ya que sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

Igualmente quiero agradecer a todos los profesores de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad San Francisco de Quito por compartir sus conocimientos tanto dentro de las aulas y como fuera de ellas.

A mis compañeros de carrera, los que terminaron con migo y también aquellos que se quedaron en el camino ya que siempre fue más fácil asistir a clases cuando ellos estaban presentes.

Del mismo modo tengo agradecimientos especiales para las personas que se involucraron directamente con la realización de este trabajo; los doctores Carlos Castillo, Marco Fornasini, Mauricio Espinel, Fernando Ortega y Fernando Carrillo.

Gracias Anat Zoldan, una persona maravillosa que me brindo todas las facilidades para recopilar los datos de este trabajo.

Resumen

En los últimos años la aparición y desarrollo de la medicina regenerativa conjuntamente con el descubrimiento, utilización y almacenamiento de células madre de sangre de condón umbilical (SCU) han presentado una alternativa en el trasplante de médula ósea para tratamiento de múltiples enfermedades, entre ellas: los errores innatos del metabolismo, malignidades, hemoglobinopatías, inmunodeficiencias y fallas de medula ósea. Si embargo existen varios limitantes para que estas unidades de SCU tengan éxito en la reconstitución hematopoyética de los pacientes (especialmente adultos). El principal limitante el cual se somete a estudio es el número total de células nucleadas (TCN) de las unidades.

Se llevo a cabo un estudio retrospectivo analítico con 197 participantes de la empresa privada Cryo-Med para determinar los factores maternos, obstétricos y neonatales que tienen mayor importancia para incrementar el TCN en las unidades de SCU. Las variables dependientes fueron: el volumen de muestra, el número de CD34⁺ y el número TCN.

Como resultado se obtuvo que el peso del recién nacido influyó sobre el volumen de muestra recolectada. Mientras el volumen de la muestra influyó sobre el número de CD34⁺ y TCN. Por lo cual se concluyó que se debe incrementar medidas para mejorar el peso de los recién nacidos y el volumen de la muestra recolectada al momento del parto.

Abstract

In recent years the appearance and development of regenerative medicine along with the detection, utilization and banking of umbilical cord blood (UCB) stem cells, have introduced an alternative in bone marrow transplantation for the treatment of several diseases such as: inborn errors of metabolism, oncologic disorders, hemoglobinopathies, immunodeficiency syndromes and bone marrow failure syndromes. Nevertheless there are several limitations for the correct hematopoietic reconstitution in patients (especially adult patients) that employ the UCB units. The major restrictive factor that was reviewed in this article is the total nucleated cells (TNC) count in the units.

A retrospective analysis with 197 participants of the private company Cryo-Med took place for the determination of maternal, obstetric and neonatal factors that are more important in order to improve the TNC count in the units of UCB. The dependable variables were: unit volume sample, number of CD34⁺ and TNC count.

As a result the infant birth weight has influenced the volume of the collected sample. Whereas the volume sample influenced the total number of CD34⁺ and TNC count. In conclusion we recommend the increase of additional measures to improve both; the infant birth weight and the volume sample achieved in the delivery.

Tabla de contenido

	Pág.
Introducción.....	1
• Justificativo.....	10
• Objetivo.....	10
Metodología.....	11
• Tipo de Estudio.....	11
• Población.....	11
• Criterios de Inclusión.....	11
• Criterios de Exclusión.....	11
• Método.....	11
• Categorización de Variables.....	12
• Análisis Estadístico.....	13
Resultados.....	13
Discusión.....	22
Conclusiones.....	25
Recomendaciones.....	25
Bibliografía.....	27
Glosario.....	30
Anexo 1.....	32
Anexo 2.....	34
Anexo 3.....	37

Lista de figuras

	Pág.
Tabla I	14
Tabla II Tipo de parto	14
Tabla III Sex del RN	14
Tabla IV Tipo de sangre del RN	14
Figura IA Semana de gestación corte 40 sem	15
Figura IB Semana de gestación en 3 grupos	15
Figura IIA Edad materna corte 30 años	15
Figura IIB Edad materna en 3 grupos	15
Figura IIIA Peso del RN corte 2500 gr	16
Figura IIIB Peso del RN en 3 grupos	16
Figura IV Células nucleadas en 2 grupos	16
Cuadro 10 regresión múltiple	16
Cuadro 10.1 regresión múltiple	17
Cuadro 11 regresión múltiple	17
Cuadro 11.1 regresión múltiple	17
Cuadro 12 regresión múltiple	17
Cuadro 12.1 regresión múltiple	18
Cuadro 1 Tipo de Parto del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	37
Cuadro 1.1	37
Cuadro 2 Sexo del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	38
Cuadro 2.1	38
Cuadro 3 Tipo de sangre del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	39
Cuadro 3.1	40
Cuadro 4 Semanas de gestación corte 40 semanas vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	41
Cuadro 4.1	41
Cuadro 5 Semanas de gestación en 3 grupos vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	42

Cuadro 5.1	42
Cuadro 6 Edad Materna con corte en 30 años vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas.....	43
Cuadro 6.1	43
Cuadro 7 Edad Materna en 3 grupos vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	44
Cuadro 7.1	44
Cuadro 8 Peso del RN con corte en 2500 gr. vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	45
Cuadro 8.1	45
Cuadro 9 Peso del RN en 3 grupos vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34 ⁺ y número de células nucleadas	46
Cuadro 9.1	46

1. Introducción:

Durante las tres últimas décadas la aparición y desarrollo de la medicina regenerativa o reparativa basada en la terapia con células, con la importante ayuda de la biología molecular, ha revelado todo un nuevo campo en la medicina para el conocimiento y tratamiento de diversas enfermedades antes denominadas de difícil manejo y muchas de ellas con mal pronóstico.

En 1916 científicos como Danckhoff describieron la presencia de un tipo de célula como precursora de otras en la médula ósea, hallazgo que años más tarde fue confirmado por Sabin en 1922 y Maxumow en 1924 (6). Desde entonces se han conducido innumerables experimentos con ampliaciones clínicas. Entre los más importantes, el primer trasplante de médula ósea realizado con éxito en 1968 (25).

En la actualidad se han descrito 3 tipos de células madre: Células madre embrionarias, que provienen de embriones en etapas iniciales (blastocisto); Células madre embrionarias germinales, que se derivan de la post implantación del blastocisto, y Células madres adultas (somáticas) que provienen de tejidos de organismos totalmente desarrollados como: médula ósea, sangre periférica, sangre de cordón umbilical, vasos sanguíneos, músculo esquelético, hígado, páncreas, pulmón, piel, epitelio del intestino, cerebro y médula espinal (4, 6, 8, 9).

“La célula madre se define como una célula que tiene la capacidad de dividirse (auto replicarse) por periodos indefinidos durante toda la vida de un individuo y que bajo las condiciones apropiadas o señales correctas puede dar origen (diferenciarse) a diferentes linajes con características y funciones especializadas” (6).

Las Células Madre se clasifican de acuerdo a su capacidad de diferenciación en:

- a) Totipotentes, con el potencial para generar tejido embrionario y extraembrionario (4, 6).

- b) Pluripotentes, con el potencial de derivar precursores de cualquiera de las tres capas germinativas (mesodermo, endodermo y ectodermo) (4, 6).
- c) Multipotentes, con el potencial de derivar precursores solamente relacionados con una de las tres capas embrionarias (4, 6).
- d) Unipotentes, las cuales solamente pueden generar células hijas, una sola línea celular (4, 6).

Las siguientes características presentadas por estos tipos de células madre o troncales se convierten en importantes ventajas al momento de trabajar con estas: en el laboratorio. La proliferación o capacidad de división por períodos prolongados de tiempo sin especializarse en ningún tipo de célula o tejido; esto permite su crioalmacenaje por periodos de tiempo mayores a 15 años (25), además de una actualmente muy cotizada y estudiada capacidad de expansión celular. La diferenciación o capacidad de transformarse en células con funciones específicas mediante la manipulación de factores externos, brinda la oportunidad de crear diversos tipos de células o tejidos. Incluso la todavía estudiada y tan cuestionada plasticidad o transdiferenciación, que es la capacidad que una vez obtenido una célula diferenciada, con adecuada manipulación de las señales del micro ambiente donde se desarrolla, se puede obtener otra célula de tejido diferente (4, 6, 9, 19, 20, 26).

Las células madre embrionarias y las células madre embrionarias germinales comparten prácticamente las mismas características (6) mientras que las células madre adultas (somáticas) difieren en ciertas propiedades. A continuación se presentan algunas de las ventajas y desventajas de ambos tipos de células.

Células madres embrionarias y embrionarias germinales humanas:

Ventajas

- Pueden dar origen a virtualmente cualquier tejido (en teoría) (5, 9)
- Algunos tejidos son fáciles de generar (cardíaco) (9)
- Se pueden dividir indefinidamente (5, 9)
- Tienen la característica de poseer telómeros largos, lo cual implica mayor capacidad de división y tiempo de vida (6)

- Responden mejor a manipulación génica (9)

Desventajas

- Únicamente trasplante alogénico (9)
- Posibilidad de formar teratomas (esto no está comprobado en las células madre embrionarias germinales) (5, 8, 9)
- Todavía son estudiadas las condiciones para su diferenciación (9)
- Algunos tipos de tejido son difíciles de generar (sangre) (9)
- Su obtención y manipulación conlleva diversos problemas ético morales (8, 9)

Células madres adultas:

Ventajas

- Transplantes autólogos (9)
- Existen diversos tipos y fuentes (9)
- Algunos tipos tienen capacidad de expansión indefinida (9)
- No tumorigénicas (8, 9, 24)
- Susceptibles a manipulación génica (9)
- Métodos de trasplante o inserción potencialmente atractivos (9)
- No presentan problemas éticos (9, 24)

Desventajas

- La mayoría tiene capacidad de expansión limitada (9)
- No se conoce bien si existe la diferenciación fuera de la línea celular, la diferenciación en este tipo de célula se considera más limitada (8, 9)
- Uso autólogo costoso (9)

En 1994 se condujeron varios experimentos y se lograron aislar las primeras células madres provenientes de blastocistos humanos (6), desde entonces ha aumentado el ya existente debate sobre aspectos éticos legales en el uso de

embriones humanos para experimentación, lo cual dificulta e imposibilita su uso en algunos países.

Nuevos esfuerzos se han desviado al estudio y experimentación en células madre adultas provenientes de varios tejidos, entre ellos: medula ósea, sangre periférica, músculo esquelético, hígado, hueso, cerebro y más recientemente sangre de cordón umbilical.

Ya en 1974 Knudtson, demostró la presencia de células progenitoras hematopoyéticas en la sangre de cordón umbilical y a finales de los 80`s, Broxmeier demostró que la sangre de cordón umbilical contiene además un tipo de célula seminal más inmaduro, las células seminales hematopoyéticas. Ambas con la capacidad proliferativa de generar todos los elementos celulares hematógenos (8).

La sangre fetal contenida en la placenta y el cordón umbilical, una vez ligado y cortado, se denomina sangre de cordón umbilical (SCU) (12). La SCU no solo contiene progenitores hematopoyéticos (células madre hematopoyéticas), varios estudios sugieren la presencia en pequeñas cantidades de células progenitoras mesenquimales (células madre mesenquimales), células madre no-hematopoyéticas (precursores neuronales) las mismas que tienen la capacidad de diferenciarse a varios tejidos como: cartílago, óseo, adiposo, hepático, o músculo cardíaco (10, 13, 20, 25, 26).

Los avances científicos en la recuperación y manipulación de las denominadas células madre o stem cell de SCU o placenta, ha traído nuevas esperanzas para la prevención y tratamiento de enfermedades malignas o no malignas como: leucemias aguda o crónica, linfoma, tumores sólidos, hemoglobinopatías, síndromes de insuficiencia de medula ósea, síndromes de inmunodeficiencia congénita y errores innatos del metabolismo (5, 14, 18, 25) (En el anexo 1 se enlistan cuales patologías pueden ser tratadas con transplante de células madre de SCU).

En la actualidad existen diversos procedimientos para recolectar la SCU, pero únicamente dos momentos para realizar la recolección. El primero es antes que se produzca el alumbramiento de la placenta y se denomina recolección *in útero*, mientras que el segundo se realiza una vez que se ha producido el alumbramiento de la placenta y se denomina recolección *ex útero*. El primero, con mejores resultados en cuanto a volumen de la muestra, es utilizado principalmente por los bancos de recolección privados. Mientras que el segundo es utilizado por los bancos de recolección públicos (18, 25).

Contrario a lo que la población en general piensa, no sólo los recién nacidos de quienes se obtienen las muestras podrían ser los beneficiados, sino también familiares cercanos o personas que presenten altos grados de histocompatibilidad para las células.

A pesar de que el trasplante de medula ósea o de sangre periférica es preferido en pacientes que tienen disponible de donante con un HLA compatible, solo para un 25% de los pacientes se encuentra un donante disponible (9, 12, 13, 18). Esto ha hecho que cada vez más se este utilizando SCU para realizar dicho procedimiento.

En este momento el trasplante de células hematopoyéticas autólogo (muestra proveniente del mismo paciente) o alogénico (muestra proveniente de otro paciente) con unidades de SCU en caso de malignidades, aplasia medula o inmunodeficiencias, es el procedimiento con el que mayor experimentación se ha realizado y por lo tanto mayor experiencia se cuenta.

La viabilidad de las células madre de cordón umbilical como fuente alternativa para trasplante autólogo y alogénico de medula ósea presentan un sin número de ventajas para los pacientes niños o adultos, comparados con otras fuentes de precursores hemáticos como lo son las provenientes de medula ósea o sangre periférica.

Entre estas ventajas podemos citar:

- Fácil método de colección de muestra sin que este presente riesgos para la madre o el neonato (1, 6, 11, 15, 18, 24, 26).
- Rápida disponibilidad, fácilmente localizables y transportables, lo cual resulta en menos días de espera para encontrar un match para el trasplante. Es mejor cuando la disponibilidad es más temprana, especialmente en los casos en cuales los pacientes necesitan un trasplante urgente (10 – 16, 25).
- Menor incidencia y gravedad de enfermedad de injerto contra huésped aguda y crónica, incluso en casos en los cuales se presente un HLA parcialmente compatible (1, 6, 10 - 16, 18, 24, 25).
- Mayor tolerancia para casos con menor compatibilidad HLA, para trasplantes no emparentados lo cual produce una mayor oferta de muestras (10 - 12, 14, 18).
- Mayor cantidad de muestras disponibles para mayor diversidad étnica (25).
- Menor incidencia de transmisiones virales en particular citomegalovirus y Epstein Barr virus (10, 11, 13, 18).
- Disponibilidad segura, donantes de medula ósea pueden cambiar de parecer durante el proceso de selección y posteriormente no estar disponibles (10, 25)
- Estudios *in vitro* han demostrado mayor capacidad proliferativa de los precursores hemáticos se SCU comparados con los provenientes de medula ósea (18, 25)

También se deben mencionar ciertas desventajas o limitaciones como:

- Menor o insuficiente número de células progenitoras hematopoyéticas en las muestras de SCU, lo cual influye para una recuperación hematopoyética e inmunológica más lenta, así como un mayor riesgo de fallo de implante, especialmente en paciente de más de 50 kilogramos (jóvenes o adultos) (10 - 12, 15, 18, 25)
- El volumen óptimo de SCU requerido para que el trasplante de medula ósea sea seguro y tenga éxito, especialmente en paciente adultos, es desconocido (18).

- Falta de disponibilidad de muestra utilizada adicional, en el caso de que se produzca una falla en el trasplante o en el caso de una recaída y sea necesario una nueva intervención (10, 11, 12, 18, 25).
- Existe la posibilidad de transplantar células que posean anomalías genéticas (11, 18).
- Limitante económico por los elevados costos de almacenamiento en bancos públicos (18, 25).
- Almacenamiento de células madre de SCU privadamente conlleva un sin número de problemas éticos (18).

En octubre de 1988 en París, Francia el doctor Elian Gluckman y sus colaboradores realizaron el primer trasplante exitoso de médula ósea con células hematopoyéticas de SCU en un niño de 6 años de edad procedente de Carolina del Norte EU, que padecía anemia de Fanconi, se usaron células de la sangre de cordón HLA compatibles proveniente de su hermana recién nacida. (3, 5, 8, 11, 12, 18, 20, 22, 25).

En 1993 se llevó a cabo con éxito el primer trasplante de donante no emparentado de médula ósea con células hematopoyéticas de SCU de un banco público en Nueva York en un niño de 3 años que padecía de leucemia linfoblástica aguda; demostrándose así las múltiples ventajas que tiene el trasplante de médula con SCU, sobre células madre provenientes de médula ósea o sangre periférica (5).

A partir de entonces se han realizado con éxito más de 6000 trasplantes alogénicos emparentados o no emparentados de médula ósea con células madre de SCU, principalmente en pacientes pediátricos con patologías hematológicas, en más de 150 centros en 21 países alrededor del mundo (18, 25).

En el Ecuador ya se tiene experiencia en la utilización de células madres de cordón umbilical para trasplantes de médula ósea. El doctor Edgar Becerra Navarrete hematólogo oncólogo del hospital de SOLCA en Cuenca ha realizado dos trasplantes exitosos de médula ósea en pacientes de sexo femenino que

padecían de leucemia mieloide aguda y linfoma no Hodgkin; en el primer caso se utilizaron células madres de SCU provenientes del Banco de Sangre de Cordón Umbilical Público del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea en México (7). La creación de bancos de células madres de SCU a nivel mundial de libre acceso podría ayudar a solucionar el problema de la gran demanda existente para poder acceder a un programa de trasplantes de medula ósea, en parte producida por un número insuficiente de donantes o a su vez por las existentes dificultades en encontrar donantes con un HLA compatible.

En 1991 fue creado en Nueva York, EU el primer banco público de células madre de cordón umbilical a nivel mundial. En la actualidad existen aproximadamente 14 bancos públicos en los Estados Unidos y alrededor de 30 bancos públicos en 21 países alrededor del mundo (5, 13, 18, 21, 22, 24). Es importante destacar la rápida creación y crecimiento de compañías privadas que ofrecen el servicio de recolección y preservación de células madre de SCU a nivel mundial, así como la importante cantidad de padres que buscan guardar a largo plazo privadamente las células madre de sus hijos, en caso de que en el futuro estos presenten o desarrollen errores innatos del metabolismo, malignidades, hemoglobinopatías, inmunodeficiencias o falla de medula ósea, que pudieran ser tratadas efectivamente con trasplantes autólogos de células madres.

En el Ecuador desde hace aproximadamente 3 años 6 meses se introdujo el primer sistema privado de recolección de células madres de cordón umbilical el cual posee sus laboratorios de procesamiento y almacenamiento de muestras en los Estados Unidos.

Durante estas tres últimas décadas de estudio e investigación en los cuales se han venido realizando miles de trasplantes de medula ósea, en la mayoría con paciente no emparentados, se ha logrado determinar que los precursores hemáticos provenientes de sangre de cordón umbilical, son una válida alternativa para pacientes cuyos casos se requiera una urgente intervención. Varios estudios han demostrado que la incidencia de enfermedad de injerto versus huésped, mortalidad y morbilidad son menores o similares a los trasplantes alogénicos.

emparentados o no emparentados realizados con precursores hemáticos de medula ósea o sangre periférica (10 - 12, 18).

La experiencia clínica y la evidencia médica han determinado que el éxito de los trasplantes con células madre de SCU depende de los siguientes factores mencionados a continuación:

- La edad del paciente (25).
- La patología a ser tratada (25).
- El estadio de la patología a ser tratada (18, 25).
- El grado de compatibilidad HLA (18, 25).
- El número de células nucleadas o progenitores hemáticos (CD 34⁺) de cada SCU transplantada (1, 3, 5, 10 - 16, 18, 25).

Sin embargo el último factor descrito es el que mayoritariamente es mencionado por los investigadores como el principal limitante para el uso de SCU para trasplante de medula ósea y es el que actualmente se está trabajando por mejorar.

Una tasa rápida de reconstitución hematopoyética y mejor sobre vida se logran, especialmente en pacientes de más de 50 kilogramos o pacientes adultos, cuando se utilizan muestras que contengan según los diferentes estudios una cantidad mínima a ser utilizada: $> \text{ó} = 1.5 \times 10^7$ total de células nucleadas (TCN) por kilogramos de peso (18), 2.5×10^7 TCN por kilogramo de peso (25), 3.0×10^7 TCN por kilogramo de peso (5), $> \text{o} = 3.7 \times 10^7$ TCN por kilogramo de peso.

Los investigadores permanecen en la continua búsqueda para encontrar el volumen adecuado que corresponde ser transplantado en ambos casos, niños y adultos.

A pesar de métodos de recolección y procesamiento protocolarizados existentes en la actualidad, la media del contenido de células nucleadas en las unidades de SCU es de alrededor de 10×10^8 TCN. Solamente una minoría de muestras de SCU, alrededor de 25%, contiene suficientes células para que en pacientes

adultos o jóvenes que pesan entre 50 - 70 kilogramos el transplante tenga existo (18, 23).

En la actualidad se mantiene la investigación de nuevas opciones para mejorar el número de células madre de SCU recuperadas durante el parto y así lograr optimizar tiempo y recursos, el objetivo es lograr procesar muestras que al ser transplantadas mejoren los resultados en la calidad y sobre vida de los pacientes que las utilicen.

El futuro uso potencial de la células madre mesenquimales de SCU como vehículos conductores de la terapia génica (5, 20) se torna como terapia prometedora para el tratamiento de un sinnúmero de patologías que se presentan tanto en etapas tempranas como tardías del desarrollo de los seres humanos, se precisan varios años más para comprender la biología de las células y descifrar los factores internos y externos que influyen el desarrollo exitoso de diferentes tipos celulares y su interacción con los diferentes entornos en las que se la utilice. Sin embargo grandes logros se mencionan actualmente y ya son nombradas varias de las patologías agudas o crónicas que el futuro no muy distante puedan ser abordadas eficazmente con la terapia regenerativa y génica, entre ellas: la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, Evento Cerebro Vascular, Esclerosis lateral amiotrófica, Esclerosis Múltiple, Lesión Traumática de la Medula Espinal, Diabetes tipo I, Infarto de Miocardio, Osteoartritis, Artritis Reumatoide, Lupus Eritematoso Sistémico, Distrofia Muscular de Duschenne, Quemaduras, Pérdida de la visión y muchas otras más (9, 10, 12, 25, 26).

1.1 Justificativo:

Se realizó este estudio debido a que el servicio privado de criomacemamiento de células madre de sangre de cordón umbilical en el Ecuador es relativamente nuevo con no más de 4 años al servicio del público en general. Por lo tanto no existen estudios científicos nacionales que demuestre como se comporta la recolección de células de SCU en el país.

1.2 Objetivo:

Este estudio tiene como propósito determinar cuales son los factores obstétricos y neonatales que tienen mayor impacto y por lo tanto deben ser tomados en cuenta al momento de realizar la recolección de las muestras de sangre de cordón umbilical y así obtener un mayor número de células madre CD34⁺ por cada unidad de SCU y poder utilizarlas en los trasplantes de pacientes niños y adultos.

2. Metodología:

2.1 Tipo de estudio:

Es un estudio Retrospectivo Descriptivo Analítico.

2.2 Población:

Paciente que hayan contratado el servicio de recolección y criopreservación con la empresa privada Cryo-Med del Ecuador en los últimos 24 meses.

2.3 Criterios de Inclusión:

- 1) El parto haya sido atendido en la Clínica de la Mujer (Quito) en un periodo que comprende los últimos 24 meses.
- 2) Disponibilidad de los expediente clínicos, tanto en la Clínica de la Mujer como en la empresa privada Cryo-Med del Ecuador.
- 3) Muestra de sangre de cordón umbilical procesadas en el laboratorio internacionales de Cryo-Med y el resultado haya sido entregado en las oficinas en Quito sin ningún tipo de anomalía.

2.4 Criterios de Exclusión:

- 1) Datos de la información materna o del neonato que se encuentre en la historia clínica no estén claros o se encuentren incompletos.

2.5 Método

La selección de las madres y neonatos participantes fueron realizadas de los expedientes de la empresa privada Cryo-Med del Ecuador, cuidando todos los detalles de confidencialidad y anonimato necesarios para este estudio.

Durante un periodo de seis semanas se escogieron 197 fichas participantes, las cuales se analizó que cumplieren los criterios de inclusión y exclusión terminados previamente en el estudio.

De las 197 pacientes participantes que contrataron el servicio privado de recolección y criopreservación, 9 fueron excluidas por incumplir con los criterios.

En todas las muestras, parto por cesárea ó parto vaginal, se llevó acabo la recolección de la muestra *in útero* con un método protocolizado por la empresa privada Cryo-Cell de los Estados Unidos, la cual se esta detallada en el Anexo 2.

2.6 Categorización de Variables

Variables	Tipo	Categoría	Escala
Edad materna.	Numérica	Años	< 30, >30 < 25, 25 – 35, >35
Tipo de parto.	Cualitativa	Parto Cesárea	Si – No Si – No
Tiempo de gestación según FUM.	Numérica	Semanas	< 40, > 40 < 38, 38 – 40, > 40
Sexo del recién nacido.	Cualitativa	Masculino Femenino	Si – No Si – No
Peso del recién nacido.	Numérica	Gramos (gr)	< 2500, >2501 <2499, 2500 – 3500, > 3501
Tipo de sangre del recién nacido.	Cualitativa	O+ A+ B+ O- A- B- AB+	Si – No Si – No Si – No Si – No Si – No Si – No Si – No
Volumen de muestra procesada.	Numérica	Mililitros (ml)	Balanza
Número de CD34 ⁺	Numérica	Millones/unidad	

recuperados.			
Número de células nucleadas.	Numérica	Millones/unidad	< 999, > 1.000

2.7 Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó como bases el programa SPSS versión 12 para Windows. Se transformaron todas las variables en numéricas y se procedió a realizar estadística descriptiva, tablas de frecuencias y regresiones multivariadas con el método ENTER para buscar relación entre las variables en estudio.

Regresión múltiple.

En el primer análisis edad materna, tipo de parto tiempo de gestación, sexo RN, peso del RN, tipo de sangre del RN y número de células nucleadas fueron las variables independientes y volumen de la muestra la variable dependiente.

En el segundo análisis edad materna, tipo de parto tiempo de gestación, sexo RN, peso del RN, tipo de sangre del RN, número de células nucleadas y volumen de la muestra fueron las variables independientes y número de CD34⁺ la variable dependiente.

En el tercer análisis edad materna, tipo de parto tiempo de gestación, sexo RN, peso del RN, tipo de sangre del RN, número de CD34⁺ y volumen de la muestra fueron las variables independientes y número de células nucleadas la variable dependiente.

3. Resultados:

Las tablas de estadística descriptiva y frecuencias de las variables obstétricas y neonatales conjuntamente con el volumen de muestra, número de CD34⁺ y número de células nucleadas de las 188 participantes del estudio están presentadas con sus resultados (tablas I, II, III y IV).

Tabla I

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Edad Materna	188	19	46	30,52	5,158
Semanas de Gestación	188	34	41	39,26	1,197
Volumen de Muestra Procesada	188	66	226	119,78	28,106
Peso de RN	188	1590	4500	3086,04	461,912
Número de células CD34⁺	188	,13	9,26	2,3086	1,78670
Número de células Nucleadas	188	142,800	2177,700	720,20505	351,895359

Tabla II
Tipo de Parto

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Cesarea	157	83,5	83,5	83,5
	Vaginal	31	16,5	16,5	100,0
	Total	188	100,0	100,0	

Tabla III
Sexo del RN

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Femenino	98	52,1	52,1	52,1
	Masculino	90	47,9	47,9	100,0
	Total	188	100,0	100,0	

Tabla IV
Tipo de Sangre del RN

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	O ⁺	110	58,5	58,5	58,5
	A ⁺	50	26,6	26,6	85,1
	B ⁺	15	8,0	8,0	93,1

O ⁻	6	3,2	3,2	96,3
A ⁻	3	1,6	1,6	97,9
B ⁻	3	1,6	1,6	99,5
AB ⁺	1	,5	,5	100,0
Total	188	100,0	100,0	

Los porcentajes comparativos de los dos grupos establecidos según: Semanas de gestación, Edad materna, y Peso del RN se presenta a continuación (figuras IA – IB, IIA – IIB, IIIA – IIIB).

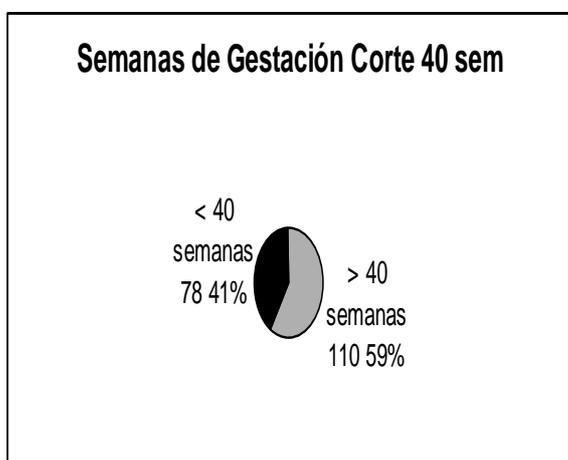


Figura IA

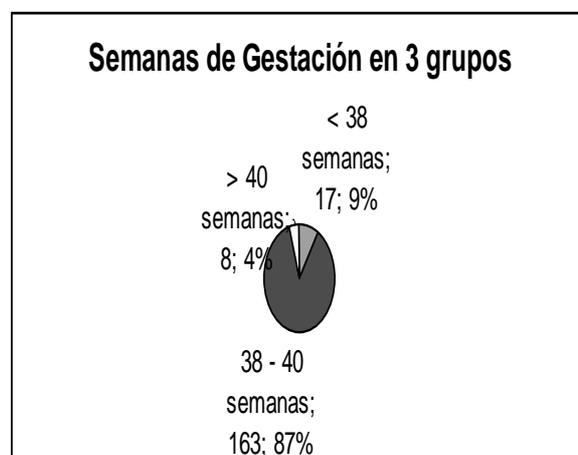


Figura IB

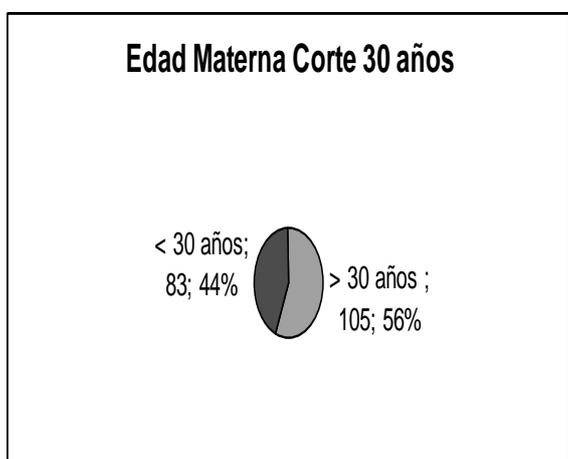


Figura IIA

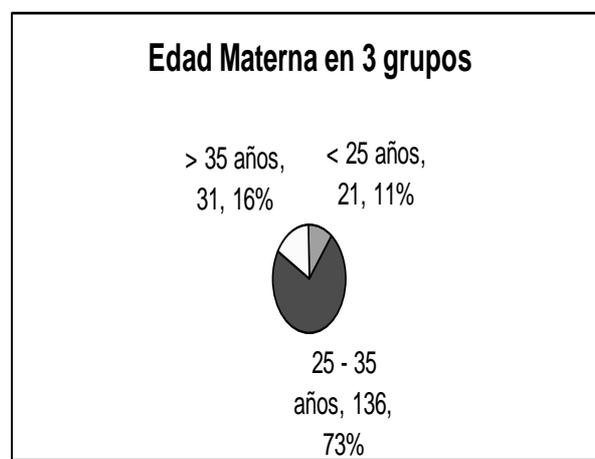


Figura IIB

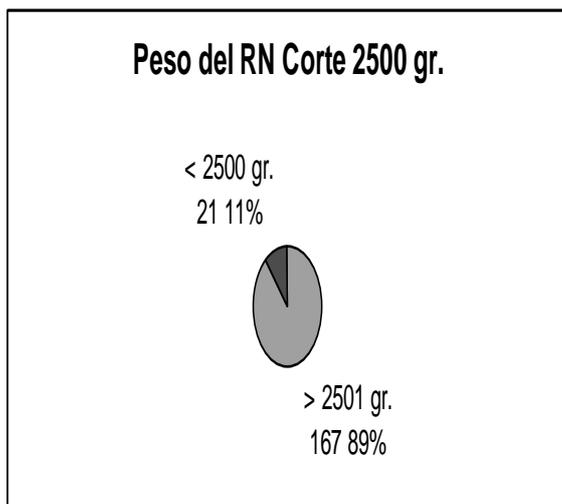


Figura IIIA

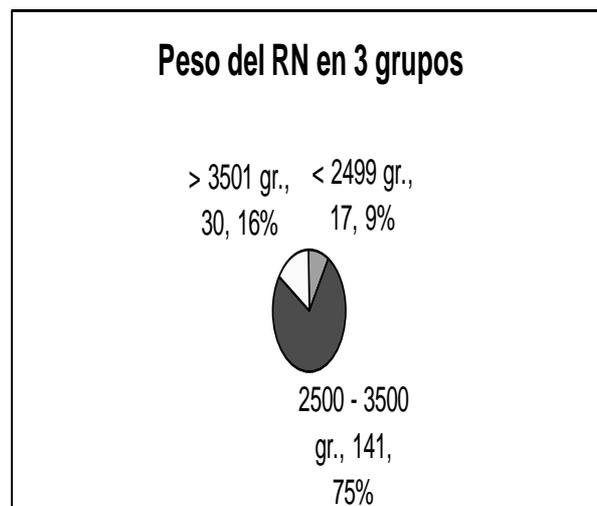


Figura IIIB

La comparación en los dos grupos de células nucleadas se presenta a continuación (figura IV).

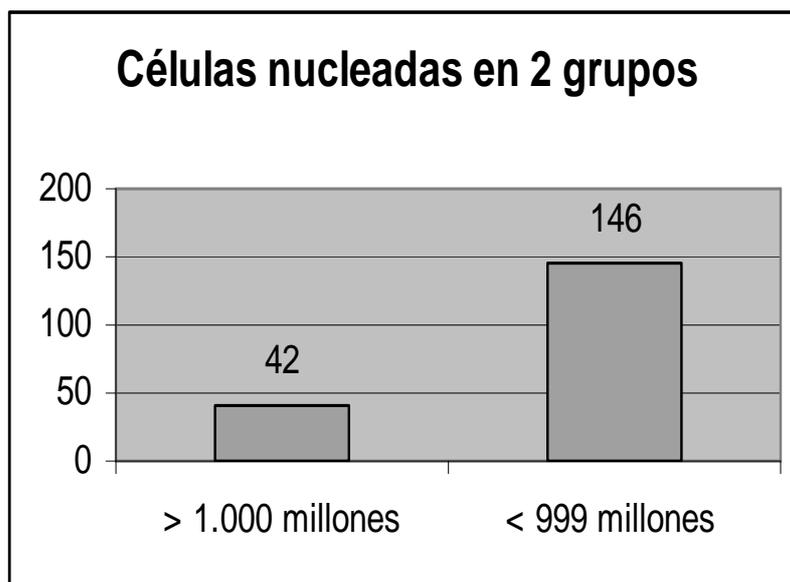


Figura IV

Los resultados de las regresiones múltiples estas presentadas a continuación (cuadros 10 – 10.1, 11 – 11.1, 12 – 12.1).

Cuadro 10

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,353(a)	,125	,096	26,729

a Predictors: (Constant), Tipo de sangre, Peso del RN, Sexo del RN, Edad materna, Tipo de parto, Semanas de gestació

Cuadro 10.1

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	22,646	67,017		,338	,736
	Semanas gestac	,774	1,793	,033	,432	,666
	Edad materna	,412	,384	,076	1,074	,284
	Tipo parto	-,797	5,432	-,011	-,147	,884
	Sexo RN	-4,243	3,934	-,076	-1,079	,282
	Peso RN	,020	,005	,328	4,360	,000
	Tipo de sangre	-,148	1,793	-,006	-,083	,934

a Dependent Variable: Volumen de muestra

Cuadro 11

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,586(a)	,344	,318	1,47543

a Predictors: (Constant), Volumen de muestra, Tipo de sangre, Sexo del RN, Edad materna, Semanas de gestación, Tipo de parto, Peso del RN

Cuadro 11.1

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-7,272	3,700		-1,965	,051
	Semana gestaci	,137	,099	,092	1,387	,167
	Edad materna	-,007	,021	-,020	-,322	,748
	Tipo parto	-,391	,300	-,081	-1,303	,194
	Sexo RN	-,065	,218	-,018	-,298	,766
	Peso RN	,000	,000	,069	1,001	,318
	Tipo de sangre	,040	,099	,025	,409	,683
	Volumen muestra	,034	,004	,533	8,262	,000

a Dependent Variable: Células CD34⁺

Cuadro 12

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,758(a)	,574	,557	234,110668

a Predictors: (Constant), Volumen de muestra, Tipo de sangre, Sexo del RN, Edad materna, Semanas de gestación, Tipo de parto, Peso del RN

Cuadro 12.1

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-1412,743	587,157		-2,406	,017
	Semana gestaci	18,573	15,708	,063	1,182	,239
	Edad materna	2,931	3,372	,043	,869	,386
	Tipo de parto	121,009	47,578	,128	2,543	,012
	Sexo RN	-55,522	34,565	-,079	-1,606	,110
	Peso RN	,064	,042	,083	1,508	,133
	Tipo de sangre	31,142	15,707	,099	1,983	,049
	Volumen muestra	8,403	,651	,671	12,907	,000

a Dependent Variable: Células nucleadas

- Análisis Univariado:

Tipo de parto.

Existe un porcentaje 5 veces mayor de pacientes en este estudio que se fueron sometidas a un parto mediante cesárea comparado con el parto vaginal (Tabla II).

Sexo del RN.

Las proporciones de sexo de los recién nacidos son similares, siendo ligeramente mayor el porcentaje del sexo femenino (Tabla III).

Tipo de sangre del RN.

Los dos principales grupos sanguíneos en el estudio fueron: O⁺ y A⁺, sumados sus porcentajes representan más de los 4/5 del total del estudio (Tabla IV).

Tiempo de gestación.

Cuando se dividió la edad gestacional de los recién nacidos en dos grupos se encontró que los porcentajes fueron similares en ambos grupos, siendo ligeramente mayor el grupo de las madres que alcanzaba o pasaban las 40 semanas de gestación (figura IA). Mientras cuando se dividió edad gestacional de

los RN en tres grupos se encontró que más de los 4/5 del total se encontraban en el grupo que tenía entre 38 y 40 semanas (figura IIB).

Edad materna.

Cuando se dividió la edad materna en dos grupos se encontró que los porcentajes fueron similares en ambos grupos, siendo ligeramente mayor el grupo de las madres que alcanzaba o pasaban los 30 años (figura IIA). Mientras que cuando se dividió edad materna en tres grupos se encontró que más de los 3/5 de las madres se encasillaban en el grupo de 25 a 35 años. El porcentaje de madres que pasaban de los 35 años fue ligeramente mayor que el porcentaje de madres menores de 25 años (figura IIB).

Peso del RN.

Cuando se dividió el peso del recién nacido en grupos se encontró que más de los 4/5 del total se encontraba en el grupo de RN que pesaba más de 2501 gr. (figura IIIA). Mientras que cuando se dividió el peso del RN en tres grupos se encontró que exactamente los $\frac{3}{4}$ de los RN se encontraron en el grupo que pesaba entre 2500 y 3500 gr. Menos del 10% de los RN tuvo un peso inferior a los 2499 gr. (figura IIIB).

Células Nucleadas.

Cuando se dividió a las células nucleadas en grupos se encontró Menos del 23% de la muestras alcanzan un número igual o mayor a 1.000 millones de células por unidad.

- Análisis Bivariado:

Tipo de Parto del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34+ y número de células nucleadas.

Cuando se realizó el cruce se encuentra que el número de células nucleadas es significativamente más elevado en el parto vaginal comparado con el parto por cesárea, mientras que el volumen de la muestra recuperada y el número de células CD34⁺ no tienen relación alguna con el tipo de parto (Anexo 3, cuadro 1 - 1.1).

Sexo del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuando se realiza el cruce se encuentra que no existe ningún tipo de relación entre recién nacidos varones o mujeres y el volumen de la recuperada, el número de células CD34⁺ y el número de células nucleadas (Anexo 3, cuadro 2 - 2.1).

Tipo de sangre del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuando se realiza el cruce se encuentra que el número de células nucleadas es significativamente más elevado en los tipos de sangre B⁻ y AB⁺ lo cual podría estar explicado por el bajo número de pacientes con estos grupos sanguíneos, entre los dos grupos representan el 2.1% del total (Anexo 3, cuadro 3 - 3.1).

Semanas de gestación corte 40 semanas vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuando se dividió las semanas de gestación en dos grupos > 40 y < 40 semanas y se realizó el cruce no se encontró ninguna relación entre los dos grupos de gestación y el volumen de la muestra recuperada, el número de células CD34⁺ y el número de células nucleadas (Anexo 3, cuadro 4 - 4.1).

Semanas de gestación en 3 grupos vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Asimismo, cuando se dividió las semanas de gestación en tres grupos: < 38, 38 – 40 y > 40 semanas y se realizó el cruce no se encontró ninguna relación entre los tres grupos de edades y el volumen de la muestra recuperada, el número de células CD34⁺ y el número de células nucleadas (Anexo 3, cuadro 5 - 5.1)

Edad Materna con corte en 30 años vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuando se dividió la edad materna en dos grupos > 30 años y < 30 años y se realizó el cruce no se encontró ninguna relación entre los dos grupos de edades y

el volumen de la muestra recuperada, el número de células CD34⁺ y el número de células nucleadas (Anexo 3, cuadro 6 - 6.1).

Edad Materna en 3 grupos vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Asimismo, cuando se dividió la edad materna en tres grupos: < 25 años, 25 – 35 años y > 35 años y se realizó el cruce no se encontró ninguna relación entre los tres grupos de edades y el volumen de la muestra recuperada, el número de células CD34⁺ y el número de células nucleadas (Anexo 3, cuadro 7 - 7.1).

Peso del RN con corte en 2500 gr. vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuando se dividió el peso del recién nacido en dos grupos < 2500 gr. y > 2501 gr. y se realizó el cruce se encontró correlaciones significativas entre peso > 2501 gr. con el número de células CD34⁺ y el número de células nucleadas. No se encontró con el volumen de la muestra recuperada (Anexo 3, cuadro 8 - 8.1).

Peso del RN en 3 grupos vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuando se dividió el peso del recién nacido en 3 grupos < 2499 gr., 2500 a 3500 gr., y > 3500 gr. Y se realizó el cruce se encontró que las tres variables: volumen de la muestra recuperada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas, se relacionan significativamente con mayores cifras con los dos últimos grupos: 2500 a 3500 gr., y > 3500 gr. En comparación con el primer grupo (Anexo 3, cuadro 9 - 9.1).

- Análisis Multivariado:

Los factores que influyen el volumen de muestra recolectada.

El único factor que modifica el volumen de muestra recolectada es el peso del recién nacido al momento del parto (cuadros 10 – 10.1) con resto de variables no se encontró ningún tiempo de correlación.

Los factores que influyen el número de células CD34⁺ de las muestras.

El único factor que influyó en la recuperación de las células madres CD34+ en las muestras de SCU es el volumen de la muestra recolectada (cuadros 11 – 11.1).

Los factores que influyen el número de células Nucleadas de las muestras.

Los dos factores que influenciaron en la recuperación de células nucleadas en las muestras de SCU son el volumen de la muestra recolectada y el tipo de parto (cuadros 12 - 12.1).

4. Discusión:

El objetivo de este estudio es determinar cuales de los factores obstétricos y neonatales ya antes mencionados, poseen mayor importancia al momento de recolectar las muestras de las pacientes que contratan el servicio privado de recolección de SCU y así lograr una mejor recuperación en la cantidad de células nucleadas y células madre CD34⁺ de las unidades procesadas.

Solamente el 25% de los pacientes que requieren un trasplante óseo encuentran un donante HLA compatible (18). Por lo cual tener a disposición una fuente alternativa de células madre hematopoyéticas de SCU, que trabajos científicos han establecido como válida por los resultados positivos establecidos en cuanto a morbilidad y mortalidad, se convierte en una necesidad imperante en muchos de esos pacientes.

Actualmente las variables que son más aceptadas a nivel mundial como criterios para almacenamiento de SCU, son el volumen de recolección y el contenido total de células nucleadas, estos criterios están basados en la experiencia científica y clínica se que ha obtenido de la revisión de miles de trasplantes que se han realizado en las ultimas 4 décadas con la respectiva sobre vida que han presentado y de cientos de investigaciones científicas que se han realizado (16).

A pesar de métodos de recolección y procesamiento que son mejorados y revisados continuamente, una minoría de muestras de SCU contiene suficientes

células para ser utilizadas en pacientes adultos o jóvenes que pesan más de 50 kilogramos (18).

Se encontró que al igual que en otros bancos de células madres a nivel mundial (18, 23), menos de $\frac{1}{4}$ de las muestras del estudio alcanzan la cantidad necesaria de células nucleadas para pacientes con pesos iguales o mayor que 50 kg. (Se utilizó como referencia para el cálculo 2.0×10^7 TNC por kilogramo de peso).

Varias investigaciones han estudiado los factores que interfieren en la cantidad de células nucleadas y células CD34⁺ de muestras de SCU y han encontrado una correlación directamente proporcional entre el peso del recién nacido y el volumen de muestra recuperada, y el volumen de muestra recuperada y el número total de células madre CD34⁺ y células nucleadas en las unidades (14 - 16).

Al igual que en anteriores investigaciones, aquí se establecieron las mismas tres importantes correlaciones: (1) el peso del recién nacido se relaciona directamente con el volumen de la muestra procesada ($r = 0.353$, $p < .0001$). (2) El volumen de la muestra de SCU procesada se relaciona directamente con el número de células madre CD34⁺ en las unidades de SCU ($r = 0.586$, $p < .0001$). (3) El volumen de la muestra de SCU procesada se relaciona directamente con el número total de células nucleadas en las unidades de SCU ($r = 0.758$, $p < .0001$). Además (4) El tipo de parto (vaginal) también se relaciona directamente con el número total de células nucleadas en las unidades de SCU ($r = 0.758$, $p < .012$).

Estos resultados presentan importantes connotaciones en la práctica médica. Los bancos públicos a nivel mundial pueden optar como política que las muestras de SCU que posean un bajo volumen pueden ser descartadas sin procesamiento alguno, logrando efectivizar tiempo, personal y recursos económicos (15, 16).

Así mismo en la práctica médica privada es importante establecer que durante el proceso de recolección de la muestra de SCU en el tercer estadio de parto (cuando la placenta se encuentra *in útero*), el médico o personal de salud que realice el procedimiento de recolección debe proponerse recuperar el mayor

volumen de SCU posible, sin que este procedimiento perturbe o ponga en riesgo la salud de la madre o de recién nacido, fundamentalmente cuando se presentan los siguientes escenarios: prematuridad, circular de cordón, cesárea, embarazo múltiple (10).

Además se debería confirmar nuevas actitudes favorables no utilizadas en este estudio como: en el caso de partos vaginales colocar al recién nacido en el abdomen materno antes de realizar el clampeaje del cordón umbilical, ya que ayuda así a obtener un mayor volumen de muestra recuperada y por lo tanto un mayor número de células CD34⁺ y nucleadas recuperadas sin poner en riesgo la vida de la madre o del recién nacido (17, 18).

Aplicar nuevos descubrimientos a los procedimientos ya establecidos puede mejorar el número de células madre contenidas en las muestras procesadas de SCU, con el objetivo final de mejorar la supervivencia de los pacientes que se sometan a distintos procedimientos que involucren la utilización de unidades de células madre de SCU.

Nuevas técnicas como la duplicación o la expansión celular CD34⁺ *ex vivo* (en laboratorio) con diversas citoquinas y medios de cultivo, al mismo tiempo la técnica de combinación de múltiples unidades no emparentadas de SCU con un HLA parcialmente compatible para aumentar el número de células madre transplantadas en adultos están siendo investigadas en la actualidad con resultados bastante prometedores (5, 10, 11, 13, 15, 16, 18, 20, 22, 25, 26).

Es importante mencionar que en estudios anteriores se describe un mayor número de células CD34⁺ en cada unidad de SCU asociado a los siguientes factores: una edad materna más joven, sexo del recién nacido y un tiempo de gestación más corto (16). Este estudio no logró establecer ninguna de estas correlaciones.

La relación inversamente proporcional entre tiempo de gestación y número de células CD34⁺ establecida en otros estudios y en la literatura, que expone que el

contenido de células CD34⁺ en el feto disminuye con el tiempo de gestación, de modo que a la semana 17 el 11% de la células son CD34⁺ mientras que a la semana 38 es cercano al 1% (8). No se presenta en este estudio.

5. Conclusiones

Menos de 25% del total de las muestras recolectadas es este estudio tiene la cantidad necesaria de células nucleadas por unidad que es requerida para utilizarlas en trasplantes de medula ósea en pacientes con pesos superior a los 50 kg.

Factores como edad materna, sexo del recién nacido, tipo de sangre, tiempo de gestación no influyen cuando se trata obtener una mejor muestra en la colección de SCU.

Existe una importante correlación entre el peso del recién nacido con el volumen de muestra recolectada, mayor peso de recién nacido mejor es el volumen de muestra recuperada.

Así mismo existe la correlación entre el volumen de muestra recolectada con el número de células CD34⁺ y células nucleadas, mayor es el volumen de recuperación de la muestra mayor es el número de células CD34⁺ y células nucleadas en millones en cada unidad.

El parto vaginal se relaciona con una mejor cantidad de células nucleadas en las unidades de SCU.

6. Recomendaciones:

- Se debe incentivar a las madres embarazadas una buena alimentación, para un correcto desarrollo y ganancia de peso del bebé.

- Los médicos deben tomar medidas necesarias tempranamente para corregir ganancias de peso inadecuadas por parte de las madres gestantes.
- Debe preferirse por parte de los médicos y de las madres el parto por vía vaginal.
- Durante el parto debe tomarse las medidas necesarias, mediante capacitación y concientización para que los médicos o personal de salud realicen recolecciones convenientes de SCU que alcancen volúmenes adecuados.

7. Bibliografía:

1. Jones J, Stevens CE, Rubeinstein P, Robertazzi RR, Kerr A, Cabbad MF; Obstetric predictors of placental/umbilical cord blood volume for transplantation. *Am Journal Obstetric and Gynecology* 2003; 188:503-509.
2. Ballen KK, Wilson M, Wu J, Ceredona AM, Hsieh C, Stewart FM, Popovsky MA, Quesenberry PJ; Bigger is better: Maternal and neonatal predictors of haematopoietic potential of umbilical cord blood units. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 7-14.
3. Solves P, Perales A, Morega R, Saucedo E, Soler MA, Monleon J; Maternal, Neonatal and Collection factors Influencing the haematopoietic Content of cord blood units. *Acta Haematol* 2005; 113: 241-246.
4. Gerech-nir S, Eldor L, Istkovitz-eldor J; Advances in Human Stem Cell Reserch. *Clinical Obstetric and Gynecology* 2203; 46: 218-230.
5. Kurtzberg J, Drapkin A, Sugarman J; Untying the Gordian knot: policies, practices, and ethical issues related to banking of umbilical cord blood. *The Journal of Clinical Investigation* 2005; 115:2592-97.
6. Rodriguez-Pardo V. Células Madre: Conceptos generales y perspectivas de investigación. *Revista de la facultad de ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana*; 2005; 10, 1 5-14.
7. Arroyo M. Cordón salva vidas. *Revista Vistazo [publicación mensual impresa]* 2006 1 de noviembre; sección salud: 56-58.
8. Simposium Internacional sobre Celulas Madre 2006: Dr. Jaime Belkind Gerson y Dr. Sandino Estrada Mondaca: Celulas Madre de Cordon Umbilical, Posibles usos futuros: Guadalajara, Jalisco, Mexico; 2006. (Documento oficial)
9. Daley GQ, Goodell MA, Zinder EY; Realistic Prospects for Stem Cell Therapeutics. *American Society of Hematology* 2003; 398-418.
10. Umbilical Cord Blood Banking. *Royal College og Obstetricians and Gynaecologists* 2006.

11. Tse W, Laughlin MJ. Umbilical Cord Blood Transplantation: A New Alternative Option. *American Society of Hematology* 2005; 377-383.
12. Deulofeu, Rozman C, Carreras E, García J, Ortega JJ, Sierra J, Urbano-Ispizua A: Análisis del estado actual de los trasplantes de sangre de cordón umbilical y de los bancos de sangre de cordón para uso familiar. www.fcarreras.es/pdf/analisis_scu_ocatt_cas.pdf.
13. Cairo MS, Kurtzberg J, Lubin BH, Shearer W: Cord blood banking for potential future transplantation. *Pediatrics* 2007; 119: 165-169.
14. Yamada T, Okamoto Y, Kasamatsu H, Norie Y, Yamashita N, Matsumoto K: Factors affecting the volume of umbilical cord blood collections. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79: 830-833.
15. Donaldson C, Armitage WJ, Laundry V, Barron C, Buchanan R, Webster J, Bradley B, Hows J: Impact of obstetric factors on cord blood donation for transplantation. *British Journal of Hematology* 1999; 106: 128-132.
16. Nakagawa R, Watanabe T, Kawano Y, Kanai S, Suzuya H, Kaneto M, Watanabe H, Okamoto Y, Kuroda Y, Nakayama T: Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. *Transfusion* 2004; 44: 262-267.
17. Grisaru D, Deutsch V, Pick M, Fait G, Lessing JB, Dollberg S et al. Placing the newborn on the maternal abdomen after delivery increases the volume and CD34+ cell content in the umbilical cord blood collected: An old maneuver with new applications. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1240-1243.
18. Armson BA, Crane J, Brunner M, Delisle MF, Farine D, Keenan-Lindsay L, Morin V, Schneider CE, Van Aerde J: Umbilical Cord Blood Banking: Implications for Perinatal Care Providers. *JOGC* 2005; 145: 263-274.
19. Martin-Rendon E, Watt SM: Exploitation of stem cell plasticity. *Transfusion Medicine* 2003; 13: 325-349.
20. Broxmeyer HE: Biology of cord blood cells and future prospects for enhanced clinical benefit. *Cytotherapy* 2005; 7: 209-218.

21. McCullough J, McKenna D, Kadidlo D, Schierman T, Wagner J: Issues in the quality of umbilical cord blood stem cells for transplantation. *Transfusion* 2005; 45: 832-841.
22. Snyder EL, Haley NR: Cord blood units for adult transplantation: Childs play no longer. *Transfusion* 2005; 45: 829-831.
23. Bornstein R, Flores AI, Montaban MA, del Rey MJ, de la Serna J, Gilsanz F: A modified cord blood collection method achieves sufficient cell levels for transplantation in most adult patients. *Stem Cells* 2005; 23: 324-334.
24. Kakinuma S: Human Umbilical Cord Blood as a Source of Transplantable Hepatic Progenitor Cells. *Stem Cells* 2003; 21: 217-227.
25. Kenneth J, Moise J: Umbilical Cord Stem Cells. *Obstetrics & Gynecology* 2005; 106: 1393-1407.
26. Ghen MJ, Roshan R, Roshan RO, Blyweiss DJ, Corso N, Khalili B, Zenga: Potential Clinical applications using stem cells derived from human umbilical cord blood. *Reproductive BioMedicine Online* 2006; 13: 562-572.
27. Wadlow RC, Porter DL. Umbilical cord blood transplantation: where do we stand? *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 637-647.
28. Bieback K, Kern S, Kluter H, Eichler H. Critical parameters for isolation of mesenchymal stem cell from umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22: 625-634.

8. Glosario:

Células somáticas.- Son aquellas [células](#) que forman el conjunto de [tejidos](#) y [órganos](#) de un [ser vivo](#), procedentes de [células madre](#) originadas durante el [desarrollo embrionario](#) y que sufren un proceso de [proliferación celular](#), [diferenciación celular](#) y [apoptosis](#).

Embrión.- Un embrión es un organismo pluricelular que se encuentra en sus primeras etapas de desarrollo.

Hematopoyesis.- La hematopoyesis o hemopoyesis (del [gr.](#) αἷμα, -ατος-, "sangre" y ποίησις, "creación") es el proceso de formación, desarrollo y maduración de los [elementos formes](#) de la [sangre](#) ([eritrocitos](#), [leucocitos](#) y [plaquetas](#)) a partir de un precursor [celular](#) común e indiferenciado conocido como [célula madre](#) hematopoyética pluripotencial, Unidad Formadora de Clones, Hemocitoblasto o stem cell.

Hemoglobinopatías.- Es un grupo de trastornos hereditarios poco comunes que comprometen la estructura anormal de la molécula de la [hemoglobina](#). Dichos trastornos abarcan la [enfermedad por hemoglobina C](#), la enfermedad por hemoglobina S-C, la [anemia de células falciformes](#) y varios tipos de [talasemia](#).

HLA.- Los antígenos leucocitarios humanos, abreviados HLA ([acrónimo inglés](#) de Human leukocyte antigen), son [antígenos](#) formados por [moléculas](#) que se encuentran en la superficie de casi todas las [células](#) de los [tejidos](#) de un [individuo](#), y también en los glóbulos blancos (o [leucocitos](#)) de la [sangre](#).

Linaje.- Linaje procede de la voz [latina](#) línea. Significa la descendencia o serie de descendientes en cualquier familia o persona considerada como primer progenitor o tronco común.

Neonato.- Bebé de cuatro semanas o menos.

Patología.- Del [griego](#), estudio (logos) del sufrimiento o daño (pathos) es la parte de la [medicina](#) encargada del estudio de las [enfermedades](#) en su más amplio sentido, es decir, como procesos o estados anormales de causas conocidas o desconocidas.

Tejido mesenquimal.- Genéricamente denominado mesénquima es el [tejido](#) del [organismo embrionario](#), de tipo [conjuntivo laxo](#): con una abundante [matriz extracelular](#), compuesta por fibras delgadas y relativamente pocas [células](#) (aunque la celularidad es muy variable). El tejido mesenquimal procede del

[mesodermo](#) durante el [desarrollo embrionario](#). El mesénquima es el tejido primitivo mesodérmico del que derivan gran parte de los tejidos orgánicos.

Telómero.- Final de un cromosoma, asociado a una secuencia característica de DNA que se replica de una forma especial. Contrarresta la tendencia del cromosoma a acortarse en cada ciclo de replicación. (Del griego telos, final.)

Teratoma.- Es un tipo de cáncer que consiste en [quistes](#) que contienen uno o más de los tres tipos principales de células que se encuentran en el bebé en desarrollo (embrión). Estas células se denominan células del ectodermo, del mesodermo y del endodermo.

ANEXO 1

Talasemias

- Alfa talasemia intermedia (enfermedad de Hemoglobina H)
- Alfa talasemia mayor (hydros fetalis)
- Beta talasemia mayor (anemia de Cooley)
- Beta talasemia intermedia

Desordenes de células falciformes

- Anemia de células falciformes (hemoglobina SS)
- Enfermedad HbSC
- Talasemia beta falciforme
- Talasemia beta+ falciforme

Desordenes Oncológicos

- Leucemia linfoblástica aguda
- Leucemia mieloide aguda
- Leucemia mieloide crónica
- Síndrome linfoproliferativo autoinmune
- Linfoma de Burkitt
- Citopenia relacionada a monosomía 7
- Histocitosis familiar
- Leucemia mielomonocítica juvenil
- Linfocitosis hemofagocítica
- Enfermedad de Hodgkin
- Histocitosis de células de langerhans
- Granulomatosis limfomatoide
- Síndrome de mielodisplasia

Desordenes Hematológicos

- Trombocitopenia amegacariocítica
- Neutropenia autoinmune (severa)
- Anemia diseritropoietica congénita
- Neutropenia cíclica
- Anemia Diamond Blackfan

- Síndrome de Evans
- Anemia de Fanconi
- Enfermedad de Glanzmann
- Anemia Hipoproliferativa
- Dermatomiositis juvenil
- Xantogranulomas juveniles
- Síndrome de Kostmann
- Pancitopenia
- Aplasia de células rojas
- Anemia refractaria
- Síndrome de Schwachman
- Anemia aplástica severa
- Mastocitosis sistémica
- Trombocitopenia neonatal severa
- Anemia sideroblástica congénita
- Síndrome de TAR

Inmunodeficiencias

- Ataxia telangiectasia
- Enfermedad granulomatosa crónica
- Síndrome de DiGeorge
- Hipogamaalbuminemia
- Deficiencia gama IKK
- Poliendocrinopatía disregulatoria inmune
- Mucopolisidosis tipo II
- Mielokatesis
- Inmunodeficiencia ligada al X
- Inmunodeficiencia combinada severa
- Deficiencia de Adenosin Desaminasa
- Síndrome de Wiscott-Adrich
- Agamaglobulinemia ligada al X
- Síndrome linfoproliferativo ligado al X

Desordenes Metabólicos

- Adrenoleucodistrofia
- Enfermedad de Gaucher (infantil)
- Leucodistrofia metacromática
- Enfermedad de Krabbe
- Enfermedad de Gunther
- Síndrome Hermansky-Pudlak
- Síndrome de Hurler

- Síndrome de Hurler-Scheie
- Síndrome de Hunter
- Síndrome Sanfilippo
- Síndrome Maroteau-Lamy
- Mucopolidosis Tipo II, III
- Mannosidosis alfa
- Síndrome Neimann Pick tipo A y B
- Síndrome de Sandoff
- Enfermedad de Tay Sachs

ANEXO 2

**INSTRUCCIONES PARA LA RECOLECCION DE SANGRE DEL CORDON
UMBILICAL NO ABRIR EL KIT HASTA LLEGAR AL HOSPITAL**

EL CONTENIDO DEL KIT NO ES ESTERIL, EXCEPTO LA BOLSA DE RECOLECCION

Contenido:

- 1.- Kit de Extracción para sangre de la madre. Incluye: un tubo de 10ml. con tapa roja y dos tubos de 10ml. con tapa lila con EDTA, alcohol, jeringuilla calibre #18.
- 2.- Bolsa de recolección de sangre ESTERIL LTX con anticoagulante y aguja calibre 16, ESTERIL, empacada en bolsa de papel aluminio y bolsa plástica NO ESTERILES
- 3.- Toallitas con alcohol.
- 4.- Isopo con iodine.
- 5.- Etiqueta de identificación para bolsa de sangre.
- 6.- Contenedor plástico rígido para embarque.

PASO 1: RECOLECCION DE LA SANGRE MATERNA

- Identifique cada uno de los tubos.
- La sangre materna debe ser extraída tan pronto como la madre ingrese al centro de salud, siempre es mejor antes del parto.
- Recolecte los tres tubos con la sangre materna (vía intravenosa). Los tubos deben llenarse a $\frac{3}{4}$ de capacidad.
- Confirme la identificación de la madre.
- Complete la identificación de cada muestra con el nombre del hospital, fecha, hora del parto.
- Guarde los tubos en el protector de espuma, y guárdelo en la bolsa de plástico de cierre hermético y en el recipiente de despacho.

*Si no le fue posible recolectar la sangre de la madre al ingreso al hospital, ésta puede ser recolectada antes del despacho de la muestra, en el brazo u otro lugar diferente donde la madre tiene la vía intravenosa.

PARTOS MULTIPLES

- Sólo se requiere un set de tres (3) tubos de sangre materna.
- Kits individuales de recolección de sangre de cordón umbilical se requiere para cada bebé.
- Recolecte la sangre del cordón umbilical de cada bebé en forma separada e identifique cada una: Bebé A, Bebé B, etc, de acuerdo al momento de nacimiento.
- ES CRITICO IDENTIFICAR CLARAMENTE LA MUESTRA DE CADA BEBE EN CADA BOLSA DE RECOLECCION.
- Se puede despachar en un solo recipiente de plástico las muestras de gemelos y trillizos.

PASO 2: RECOLECCION DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL VIA VAGINAL

PARTO NORMAL O VAGINAL:

Una vez que el bebé nace, la persona encargada de la recolección debe usar guantes estériles nuevos.

1. Pince y corte el cordón umbilical a dos-tres centímetros de distancia del ombligo del bebé.
 2. Después del parto y antes de la expulsión de la placenta, en el sitio que se hará la punción se limpiará muy bien 12 centímetros del cordón con el isopo de yodine. Para asegurar un mayor volumen de sangre, el sitio de punción debe ser justo sobre la pinza del cordón umbilical
 3. Saque la tapa protectora de la aguja que viene con la bolsa de recolección de sangre e inserte en el sitio limpio del cordón umbilical. (Tener cuidado de no traspasar la vena).
 4. Coloque la bolsa de recolección a una menor altura, usando la gravedad y **recolecte la mayor cantidad de sangre posible**. Por lo menos 90 ml (incluido los 35ml de anticoagulante) de RECOLECCION, ES NECESARIA PARA EL PROCESO.
- Al final de la recolección, por lo menos $\frac{3}{4}$ partes de la bolsa de recolección debe estar llena.
- El proceso dura entre 3 y 5 minutos.
5. Si la vena colapsa se puede hacer una nueva punción en un punto superior.
 6. Limpie bien el nuevo sitio con el isopo de yodine.
 7. Cuando termine la recolección, exprima la sangre restante de la manguera en la bolsa de recolección
 8. Retire la aguja del cordón umbilical.
 9. Haga un nudo fuerte en la manguera de la bolsa cerca de la aguja.
 10. Corte la aguja y deseche en el recipiente adecuado. (Asegúrese de que el corte de la manguera sea cerca de la aguja).
 11. Haga dos nudos adicionales en la manguera de recolección dejando por lo menos 10 centímetros entre la bolsa y el primer nudo, esto evitará derrames en el envío.
 12. Invierta la bolsa suavemente varias veces para homogenizar la sangre y el anticoagulante.
 13. Complete la información de la etiqueta, con fecha, hora de recolección. Si es parto múltiple se debe identificar por orden de nacimiento, Bebé A, B, etc.

PASO 2: RECOLECCION DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL VIA CESAREA CESAREA:

Una vez que el bebé nace, la persona encargada de la recolección debe usar guantes estériles nuevos.

El procedimiento NO CAMBIA a excepción de que no se limpia el área de punción ya que esta es esteril

METODO PARA LA RECOLECCION SI LA PLACENTA HA SIDO EXPULSADA

- Limpie el cordón umbilical de la manera que se describe anteriormente.
- Inserte la aguja en el cordón umbilical anexo a la placenta.
- Eleve la placenta expulsada para facilitar la recolección.
- Coloque la bolsa de recolección a una menor altura, usando la gravedad y recolecte la mayor cantidad de sangre posible. POR LO MENOS 90 ML (INCLUIDO LOS 35ML DE ANTICOAGULANTE) DE RECOLECCION ES NECESARIA PARA EL PROCESO.

Al final de la recolección, por lo menos $\frac{3}{4}$ partes de la bolsa de recolección debe estar llena. El proceso dura entre 3 y 5 minutos.

- Proceda con los pasos tal como se describe en parto vaginal a partir del punto 5.
- En este proceso se puede recolectar menor cantidad de sangre.

REMOVER TODO OBJETO CORTOPUNZANTE ANTES DEL ENVIO

PASO 3: IDENTIFICACION Y PREPARACION PARA DESPACHO

IDENTIFICACION DE LA BOLSA DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL Y DE LA MADRE

NO ENVIAR TUBOS DE SANGRE DE LA MADRE Y DE LA BOLSA DE RECOLECCION SIN LA DEBIDA IDENTIFICACION.

- Los tubos para la sangre de la madre vienen con etiquetas autoadhesivas y la información necesaria, así como también para la bolsa de recolección.
- Confirmar la identidad de la madre (nombre y apellido).
- Llenar los datos solicitados con fecha de parto, hora del nacimiento, nombre del hospital.

LAS MUESTRAS QUE NO TENGAN LA IDENTIFICACION REQUERIDA, SERAN DESCARTADAS POR CRYO-CELL Y NO SERAN PROCESADAS.

Personal de Cryo-Med, recibirá las muestras de la sangre de la madre y las del cordón umbilical en el recipiente de plástico; se encargará de la revisión de los documentos, muestras, etiquetas, etc.; y del despacho de la muestra a través de una de las empresas de courier contratadas para este servicio.

NO REFRIGERAR, RETIRAR TODO OBJETO CORTOPUNZANTE ANTES DEL DESPACHO

*Tomado del manual de recolección de la empresa privada Cryo-Med del Ecuador.

ANEXO 3

Tipo de Parto del RN vs. Volumen de muestra procesada, número de células CD34⁺ y número de células nucleadas.

Cuadro 1