

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**Factores maternos, obstétricos, neonatales y geográficos que influyen
con la cantidad de células nucleadas totales y células madres de baja
densidad/CD34+ recolectadas en sangre de cordón umbilical.**

José Alejandro Cordovez Silva

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del título de Médico

Quito, Diciembre del 2009

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

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

Factores maternos, obstétricos, neonatales y geográficos que influyen con la cantidad de células nucleadas totales y células madres de baja densidad/CD34+ recolectadas en sangre de cordón umbilical.

José Alejandro Cordovez

Marco Fornasini, M.D., PhD.
Director de la Tesis

.....

Alfredo Jijón, M.D.
Miembro del Comité de Tesis

.....

Angel Guevara, M.D., PhD
Miembro del Comité de Tesis

.....

Enrique Noboa, M.D.
Decano del Colegio de Ciencias de la Salud

.....

Quito, Diciembre del 2009
© Derechos de Autor
José Alejandro Cordovez Silva
2009

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado a mi esposa que es una mujer ejemplar y que siempre me ha brindado fortaleza, apoyo incondicional y fe durante esta carrera.

*"Detrás de un gran hombre está una gran mujer..."
Groucho Marx*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis abuelos quiénes siempre me han brindado su sostén a lo largo de esta carrera.

Agradezco también a mis padres y hermano por su amor incondicional y apoyo a lo largo de mi vida.

Quiero agradecer al Dr. Marco Fornasini y Angel Guevara por sus consejos y asistencia a lo largo de esta investigación.

Agradezco también al Dr. Alfredo Jijón por su colaboración en esta investigación y también por su generosidad y consejos para mi carrera y futuro.

Por último quiero agradecer a Gabriel López y al personal de Biocells Discoveries por su apoyo y apertura durante esta investigación.

RESUMEN

Introducción: En este estudio se investigó la relación entre los factores maternos, neonatales y geográficos con la cantidad de células nucleadas totales y células madre de baja densidad/CD34+ de sangre de cordón umbilical. Las células madre CD34+ son células madre hematopoyéticas (CMH) las cuales tienen la capacidad de restablecer toda la población linfahematopoyética de la médula ósea, por esta razón estas células han sido utilizadas para trasplantes de médula ósea para un amplio número de enfermedades linfáticas y hematopoyéticas de origen maligno. Gracias a su facilidad de obtención y otras características, las células madre de cordón umbilical se han convertido en una alternativa terapéutica de las obtenidas en médula ósea.

Objetivos: Encontrar si existe influencia de los factores maternos, neonatales y geográficos en la cantidad de células nucleadas totales (CNT) y células madre de baja densidad CD34+ de sangre de cordón umbilical.

Materiales y Métodos: Mediante la realización de un estudio de cohorte retrospectivo de tipo descriptivo se recopiló los datos maternos y neonatales por medio de una encuesta enviada a las madres, mientras que los datos de la cantidad de células madre CD34+ y CNT se obtuvieron de los registros de Biocells Discoveries. Estos datos fueron tabulados y analizados en el programa SPSS Statistics v17.

Resultados: En el análisis de los datos se encontró que existe una correlación significativamente positiva entre el peso de la muestra de sangre de cordón umbilical y la cantidad de CNT y de células madre CD34+ ($r=0,577$ y $r=0,487$ respectivamente, ambos con $p<0,005$). También se encontró una relación estadísticamente positiva entre un bajo número de células madre CD34+ y la ingesta de alcohol ($p=0,005$), presencia de hipertensión gestacional ($p=0,019$), presencia de preclampsia ($p=0,023$) y diabetes gestacional ($p=0,023$). Por otro también se encontró que los bebés nacidos a término presentan una mayor cantidad de células madre CD34+ que los nacidos pretérmino ($p=0,006$). Por último no existió ninguna relación estadísticamente significativa entre el peso al nacer con la cantidad de CNT y de células madre CD34+.

Conclusiones: Se encontró que existen un número de factores maternos y neonatales que influyen en la cantidad recolectada de células madre CD34 y de CNT.

Palabras Claves: Células madre de baja densidad CD34+, células madre hematopoyéticas, factores maternos, neonatales y geográficos, células nucleadas totales, sangre de cordón umbilical.

ABSTRACT

Introduction: This study investigated the relationship between maternal, neonatal and geographical factors and its relationship with the number of total nucleated cells (TNC) and low density/CD34+ stem cells from cord blood. CD34+ stem cells are also called hematopoietic stem cells (HSCs), these cells have the ability to repopulate all the lymphohematopoietic system, which is why these cells have been used for bone marrow transplants in a wide number of diseases of lymphatic and hematopoietic malignant origin. Thanks to its easy availability and other characteristics, the cord blood stem cells have become an alternative treatment from those found in bone marrow.

Objectives: To find if there is any influence of maternal, neonatal and geography factors in the number of total nucleated cells

(TNC) and low density/CD34+ stem cells from cord blood.

Materials and Methods: By undertaking a cohort descriptive retrospective study, data of the maternal and neonatal factors was collected through a survey sent to the mothers, while data on the number of CD34+ stem cells and TNC were obtained from Biocells Discoveries records. These data was tabulated and analyzed in SPSS v17 program.

Results: Data analysis found that there is significantly positive correlation between the weight of the cord blood sample and the amount of TNC and CD34+ stem cells ($r = 0.577$ and $r = 0.487$, respectively and both with $p < 0,005$). We also found a statistically positive association between a low number of CD34+ stem cells and: alcohol intake ($p = 0.005$), presence of gestational hypertension ($p = 0.019$), presence of preeclampsia ($p = 0.023$) and gestational diabetes ($p = 0.023$). We also found that babies born at term had a higher amount of CD34+ stem cells than those born preterm ($p = 0.006$). Finally there was no statistically significant correlation between the weight at birth and the amount of TNC and CD34+ stem cells.

Conclusions: We found that there are a number of maternal factors and neonatal that influence the amount recollected of CD34+ stem cells and TNC.

Keywords: CD34+/low density stem cells, hematopoietic stem cells, maternal/neonatal/geographical factors, total nucleated cells, cord blood

TABLA DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	5
i. Historia y descubrimiento de las células madre.....	6
i. Definición y propiedades de las células madre.....	7
ii. Desarrollo embrionario durante la primera semana.....	10
iii. Propiedades de las células madre embrionarias.....	15
iv. Propiedades de las células madre adultas.....	17
v. Fases del ciclo celular.....	20
vi. Nichos de células madre adulta.....	21
vii. Células madre adultas similares a células madre embrionarias.....	23
viii. Células madre hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical.....	24
ix. Expansión de CMH de sangre de cordón umbilical.....	29
III. METODOLOGÍA.....	30
i. Objetivos.....	30
ii. Diseño y tipo de estudio.....	31
iii. Población del estudio y tipo de muestra.....	31
iv. Criterios de inclusión y exclusión.....	32
v. Categorización de variables.....	32
vi. Análisis estadístico.....	38
IV. MATERIALES.....	38
i. Recolección de la muestra y procesamiento.....	38
ii. Recolección de datos.....	39
V. RESULTADOS.....	39
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	50
VIII. ANEXOS.....	54

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS

- **Figura 1:** Enfermedades normalmente tratadas con transplante de CMH.....2
- **Figura 2:** Etapas de diferenciación desde célula madre embrionaria hasta neurona.....10
- **Figura 3:** Ilustración de la fertilización.....11
- **Figura 4:** Ilustración de la división del cigoto y formación del blastocisto.....13
- **Figura 5:** Unión del blastocisto al epitelio endometrial durante las etapas tempranas de su implantación.....14
- **Figura 6a y 6b:** Teoría sobre el desarrollo ontológico de las células madre.... 18 y 19
- **Figura 7:** El ciclo celular.....22

TABLAS

- **Tabla 1:** Características de las muestras de cordón umbilical y los factores maternos/neonatales
 - Completa.....57
 - Incompleta.....39
- **Tabla 2:** Relación entre Región, CNT y CD34+.....59
- **Tabla 3:** Relación entre tipo de parto, CNT y CD34+.....59
- **Tabla 4:** Relación ingesta de alcohol en el embarazo, CNT y CD34+.....43
- **Tabla 5:** Relación presencia de HTG, CNT y CD34+.....43
- **Tabla 6:** Relación presencia de PE, CNT y CD34+.....43
- **Tabla 7:** Relación presencia de DG, CNT y CD34+.....43
- **Tabla 8:** Relación entre el sexo del bebé, CNT y CD34+.....59
- **Tabla 9:** Relación entre el peso del bebé al nacimiento, CNT y CD34+.....63
- **Tabla 10:** Relación entre la edad del bebé al nacimiento, CNT y CD34+.....45

GRÁFICOS

- **Gráfico 1a:** Distribución de células nucleadas totales.....58

- **Gráfico 1b:** Distribución de células madre de baja densidad/CD34+.....58
- **Gráfico 2:** Correlación entre el peso de la muestra (g) y la cantidad de células madre CD34+41
- **Gráfico 3:** Correlación entre el peso de la muestra (g) y la cantidad de CNT.....41
- **Gráfico 4a:** Correlación entre la edad al nacimiento y la cantidad de células nucleadas totales (CNT).....60
- **Gráfico 4b:** Correlación entre la edad al nacimiento y la cantidad de células madre CD34+.....60
- **Gráfico 5a:** Correlación entre el peso al nacimiento (g) y la cantidad de células nucleadas totales (CNT).....61
- **Gráfico 5b:** Correlación entre el peso al nacimiento (g) y la cantidad de células madre CD34+.....61
- **Gráfico 6a:** Correlación entre la talla al nacimiento (cm) y la cantidad de células nucleadas totales (CNT).....62
- **Gráfico 6b:** Correlación entre la talla al nacimiento (cm) y la cantidad de células madre CD34+.....62

INTRODUCCIÓN

Las células madres es una de las ramas de la medicina que presenta al momento el futuro más prometedor en lo que se refiere a la posible curación de enfermedades crónicas incurables. Enfermedades malignas, degenerativas, crónicas, etc. parecen tener sus días contados con el aumento exponencial en la investigación de la medicina regenerativa. En la actualidad el único linaje de células madres que se utilizan en tratamientos clínicos es el de las células madres hematopoyéticas; actualmente se utilizan para algunas enfermedades, muchas de ellas de origen hematopoyético (ver figura 1).

Las células sanguíneas maduras son producidas continuamente por precursores menos diferenciados, los cuales provienen de progenitores más primitivos, los cuales originalmente provienen de las células madre hematopoyéticas (CMH). Estas células tienen la capacidad de restaurar todo el sistema linfahematopoyético, por lo que es importante poderlas extraer para el tratamiento de las enfermedades presentadas anteriormente. La primera fuente de CMH fue la médula ósea, la cual se la obtenía con repetidas aspiraciones de la cresta iliaca posterior bajo anestesia local. Luego se encontró que las CMH de la médula ósea se suelen desprender a la circulación sistémica para luego volver a la médula ósea. Por esta razón se encontró que la obtención de CMH a partir de la sangre periférica era una mejor opción que la punción de médula ósea (Copelan, 2006). En un estudio se encontró que las CMH obtenidas de sangre periférica tenían una reconstitución hematopoyética más rápida que las CMH de médula ósea, pero al poseer una mayor cantidad de linfocitos T se incrementaba la incidencia y duración de tratamiento de la enfermedad injerto vs. huésped crónica (Stewart BL, 2004). Por último se encontró la presencia de CMH en la sangre de cordón umbilical, luego de realizar exitosamente un tratamiento de anemia de Fanconi en un niño (Gluckman E, 1989). La

sangre de cordón umbilical ha sido transplantada en más de 6000 personas hasta el año 2006, a pesar de que la sangre de cordón umbilical es rica en CMH esta carece de volumen.

<p>Transplante Autólogo</p> <p>Cáncer</p> <ul style="list-style-type: none">Mieloma MúltipleLinfoma No-HodgkinEnfermedad de HodgkinLeucemia Aguda MieloblásticaNeuroblastomaCáncer de OvarioTumores de células germinales <p>Otras Enfermedades</p> <ul style="list-style-type: none">Desórdenes AutoinmunesAmiloidosis <p>Transplante Alogénico</p> <p>Cáncer</p> <ul style="list-style-type: none">Leucemia mieloblástica agudaLeucemia linfoblástica agudaLeucemia mieloblástica crónicaSíndromes mielodisplásicosSíndromes mieloproliferativosLinfoma No-HodgkinLinfoma linfoblástica crónicaMieloma MúltipleLeucemia mieloblástica crónica juvenil <p>Otras enfermedades</p> <ul style="list-style-type: none">Anemia aplásicaHemoglobinuria paroxística nocturnaAnemia de FanconiAnemia de Blackfan-DiamondTalasemia mayorAnemia de células falciformesInmunodeficiencia combinada severaSíndrome de Wiskott-AldrichErrores innatos del metabolismo
<p>Figura 1. Enfermedades normalmente tratadas con transplante de CMH. Fuente: (Copelan, 2006). CMH: células madre hematopoyéticas.</p>

Una de las grandes ventajas que presenta las CMH de sangre de cordón umbilical es que tienen menor probabilidad de producir la enfermedad injerto-versus-huésped, pero no pierde el efecto leucémico de injerto-versus huésped (Wagner, Barker, & DeFor, 2002).

Todo esto ha llevado a la creación de bancos de criopreservación de células madre de sangre de cordón umbilical. Alrededor de 21 países almacenan un aproximado de 170,000 unidades de cordón umbilical. La Bone Marrow Donors Worldwide recolecta y enlista los tipos de HLA (Copelan, 2006).

Los bancos de criopreservación pueden ser de 2 tipos principalmente; privados o públicos (dependientes de un hospital privado o estatal). Los bancos privados son instituciones con fines de lucro en donde los padres deciden preservar las CME de sangre de cordón umbilical de su hijo, por lo que pagan a dichas instituciones para la recolección, procesamiento y almacenamiento de la sangre de cordón umbilical (SCU). Estas células están a disposición de la familia, ya sea para el mismo niño, otro hijo, o algún familiar que lo requiera, siempre y cuando tenga compatibilidad HLA. El otro tipo de banco de criopreservación es el banco público, estos son bancos de criopreservación en donde el donante no tiene que correr con los gastos, en estos bancos el receptor es el que paga por las unidades de cordón umbilical necesarias para su tratamiento según su compatibilidad e indicación médica (Lubin BH, 2009).

En el Ecuador actualmente existen 3 bancos de sangre de cordón umbilical, todos privados. Los tres bancos son Biocells Discoveries, Cordón de Vida y Cryomed. De estos tres bancos solo uno de ellos procesa y preserva las células dentro del Ecuador, este es Biocells Discoveries. En el caso de Cordón de Vida sus muestras son procesadas en Panamá y las de Cryomed son procesadas en Tampa, EUA. De estas tres empresas ninguna de ellas procesa y almacena células como banco público por el costo que este

procedimiento involucra. Dentro de los Estados Unidos el costo de proceso inicial es de \$1,110 a \$1,750 por cada muestra con cargos de \$115 a \$125/unidad por año (Lubin BH, 2009), sin contar los costos de análisis de infecciones, y conteo celular de cada muestra. Debido a los elevados costos y a la escasez de pacientes que se sometan a trasplantes con CMH de SCU en el Ecuador, la creación de un banco público se ha visto algo retrasada al igual que la implementación de un banco público dentro de los bancos privados ya existentes. Por esta razón es de gran importancia que al seleccionar un donante de sangre de cordón umbilical este tenga una muestra con una cantidad de células adecuada, para de esta manera no malgastar fondos en el procesamiento y almacenamiento de una muestra que no va a cumplir los requisitos necesarios para un trasplante de CMH. Debido a que la creación de un banco publico de SCU es algo inminente en el país, es necesario realizar estudios que analice los factores maternos, neonatales y geográficos que pueden influenciar en la cantidad de CMH; de esta manera se podría tener una referencia de los parámetros adecuados para tener una muestra adecuada que pueda ser utilizada exitosamente en un futuro trasplante de CMH, y con esto no malgastar los fondos en muestras que deban ser desechadas en el futuro por su mala calidad.

De tal manera el propósito de este estudio es recopilar, por medio de una encuesta, los factores maternos, obstétricos, neonatales y geográficos, recolectar los datos del conteo de células nucleadas totales y de células CD34+ (es el marcador de superficie con el cual se reconocen a las CMH) obtenidas en las muestras de SCU; todo esto para poder realizar un análisis estadístico para determinar los factores de importancia y tener

una muestra adecuada para un futuro trasplante. Con este análisis se espera poder tener una posible referencia de factores que tienen que presentarse en el embarazo, parto y del bebé para tener una muestra adecuada de CMH. Debido a que no se tiene bancos públicos, el estudio se realizará con las muestras de SCU y las pacientes del banco privado Biocells Discoveries desde Abril del 2006 a Febrero del 2009.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El uso de células madre es una de las grandes promesas a futuro en el campo de la medicina. Su potencial uso en la medicina regenerativa y en el tratamiento de enfermedades genéticas ha sido constantemente noticia en la comunidad médica. Estos hechos han permitido un persistente avance en el entendimiento de su biología y sus propiedades, las cuales cada día asombran más (Higgs, 2008). Estudios recientes han mostrado un gran éxito; ya que inclusive células somáticas totalmente diferenciadas (como los fibroblastos de la piel) pueden ser reprogramadas y llegar a presentar características de células madres embrionarias, las cuales se las denomina células madres pluripotenciales inducidas (Takahashi K, 2006). A pesar de que esta nueva rama de la medicina avanza a pasos agigantados aún no existen definiciones exactas con respecto a la naturaleza de los diferentes tipos de células madres; y debido a la extensa información proporcionada en el Internet y la idiosincrasia al momento de dar definiciones existe mucha confusión en este aspecto (Melton & Chad, 2006). Por esta razón es importante empezar tratando de definir lo que es una célula madre y sus diferentes tipos y describir

las propiedades de dichas células madres para determinar con mejor precisión su naturaleza.

HISTORIA Y DESCUBRIMIENTO DE LAS CÉLULAS MADRE

Adicionalmente es importante hablar sobre el descubrimiento y la historia detrás de las células madres. El campo de la investigación y aplicación de la medicina regenerativa, y el estudio de la biología celular de las células madres se inició luego de los estudios pioneros de Roy Stevens y Barry Pierce en teratomas y teratocarcinomas de ratón en los años 1960's. Stevens se enfocaba más en desarrollar y explotar líneas de ratón con elevada incidencia en dichos tumores para encontrar el origen celular de estos mismos. Por otro lado, Pierce se enfocaba en estudiar la naturaleza del teratocarcinoma que le proporcionaba la cualidad de mantener un crecimiento infinito. Luego un sorprendente experimento de Pierce en 1964 mostró de forma inequívoca, que al realizar un trasplante a un huésped histocompatible, una célula morfológicamente indiferenciada podía dar crecimiento a un teratocarcinoma autosustentable con una amplia variedad de tejido diferenciado. Esta célula se la dio el nombre de célula cancerígena embrionaria (EC), la cual fue la primera célula pluripotencial en ser categorizada (Gardner, 2006). Con el hallazgo de esta célula se iniciaron modelos de estudio en los aspectos del desarrollo, lo cual generó una gran interrogante sobre la base de su malignidad; ¿era consecuencia de cambios genéticos o era simplemente porque células embrionarias no

podieron relacionarse en sitios ectópicos en que fueron transplantadas? La mejor forma de resolver esto era colocando células EC en tejido embrionario y no en tejido adulto. Esto derivó a otro estudio en donde se colocaron células (EC) en blastocitos normales. El hallazgo volvió a sorprender, ya que se esperaba que las células se desarrollen de manera maligna y eliminen al huésped, sin embargo se encontró que las células malignas del donador continuaron con un desarrollo normal en casi la mayoría de órganos y tejidos del huésped. De todas maneras se encontraron problemas ya que dichas células EC formaron quimeras más modestas y dispersas en la progenie y en algunos casos formaron tumores, ya sean teratocarcinomas o mucho más específicos como los rhabdomyosarcomas. Esto generó que se realicen investigaciones en los blastocitos, extrayéndolos y colocándolos en medios de crecimiento enriquecidos y, se desarrollaron una mayor cantidad de líneas celulares de las que se obtenían de las células (EC). Estas células que exhibían las mismas características de las células (EC), pero sin tantos efectos adversos, se las llamo células madres embrionarias (ES, por sus siglas en inglés de embryonic stem) (Gardner, 2006). Otro estudio que también colaboró en el descubrimiento de células madre adultas fue el estudio de Till y McCulloch en 1961; en este estudio se reportó que las células raras de la médula ósea de un ratón al ser transplantadas en otro ratón (el cual había sido irradiado de manera letal), migraban al bazo y generaban nódulos hematopoyéticos en dicho órgano, nódulos que se derivaban de una célula clonada del ratón donante. Esto generó las bases teóricas para estudios posteriores de trasplante medular, de la presencia de células con capacidad de autorrenovación, diferenciación y propiedades específicas dentro de la médula ósea (es decir la presencia de las conocidas células madres hematopoyéticas) (Yoder, 2009).

DEFINICIÓN Y PROPIEDADES DE LAS CÉLULAS MADRE

Con todo este antecedente es importante definir que es una célula madre; a pesar de que hay un extenso periodo de tiempo desde su descubrimiento no se ha llegado a una definición exacta. La mejor forma de definir una célula madre es por las propiedades que esta presenta (Melton & Chad, 2006). Propiedades las cuales se requieren para los múltiples procesos de reemplazo celular a causa de pérdidas por daños tisulares y envejecimiento. Procesos como los que se ve en la médula ósea, la cual produce una gran cantidad de glóbulos blancos por minutos debido a la pérdida de estos en el mantenimiento de la inmunidad; de la misma manera se tiene las células epiteliales del intestino y la piel que están en constante renovación para mantener la integridad de dicha capa (Yoder, 2009). De tal forma que una célula madre se define de manera funcional como una célula con la capacidad de auto-renovación y de la misma manera con la capacidad de generar células diferenciadas. Es decir que tiene la capacidad de dividirse y mantener las mismas propiedades de la célula madre o de dividirse en células con menor potencialidad (Melton & Chad, 2006). En los animales vertebrado se tiene 2 tipos de células madres: las células madres embrionarias ES y las células madres adultas, estas últimas son las células madres responsables de la regeneración de tejidos específicos (Yoder, 2009); es importante añadir un criterio adicional de definición para el caso de las células madre adultas, ya que existen células madres adultas transitorias, es el criterio de la auto-renovación. Esta última propiedad debe de permanecer durante toda la vida de la células, es decir del ser viviente, para considerar una célula adulta como célula madre

(Melton & Chad, 2006). Con todo esto es importante definir cada una de las propiedades expuestas anteriormente. En primer lugar se tiene la auto-renovación, como ya se indicó anteriormente, es la propiedad de generar una capacidad proliferativa suficiente para durar una vida entera, es decir ser inmortal. Segundo, se tiene la propiedad de clonabilidad, que es la capacidad de producir una o más copias exactas de dicha célula (Melton & Chad, 2006). Por último se tiene la propiedad de la potencialidad, debido a que se conoce que las células madre poseen diferentes grados de potencialidad durante su desarrollo, es importante definir la potencialidad según sus diferentes tipos (ver figura 2). Dentro de la potencialidad se tiene: 1) células totipotentes que poseen la capacidad de generar todas las células necesarias del desarrollo, incluyendo las células necesarias para el trofoblasto y la placenta (estas se encuentran en el cigoto y en las etapas más tempranas del desarrollo embrionario); 2) células pluripotentes las cuales se pueden diferenciar en cualquier tipo de célula presente en uno de los tres tipos de tejidos embrionarios (ectodermo, mesodermo y endodermo); 3) células multipotentes son las que tienen la capacidad de diferenciarse en células pertenecientes a un linaje específico (como son las células madre hematopoyéticas, las cuales solo pueden formar células del componente sanguíneo); 4) células unipotentes, estas son células que solo pueden generar un tipo de célula madura manteniendo la capacidad de auto-renovación, lo cual las diferencia de las células normales (como las células madres espermatozógenas) (Nandoe Tewarie, Hurtado, Bartels, Grotenhuis, & Oudega, 2009) (International Society for Stem Cell Research, 2008). De esta manera una definición más acertada según la funcionalidad de la célula madre es: “una célula madre es entidad auto-renovable, clonable, multipotencial, de tal manera que puede generar varios tipos diferentes de células” (Melton & Chad, 2006).

Con esto la International Society for Stem Cell Research define a una célula madre embrionaria como una célula derivada del interior de la masa celular de un blastocito que es auto-renovable, pluripotencial y teóricamente inmortal; mientras que la célula madre adulta es una célula que se encuentra en los diferentes tejidos de un organismo desarrollado las cuales permanecen en un estado indiferenciado, de donde se pueden originar diferentes tipos de células especializadas del tejido que estas provienen (International Society for Stem Cell Research, 2008).

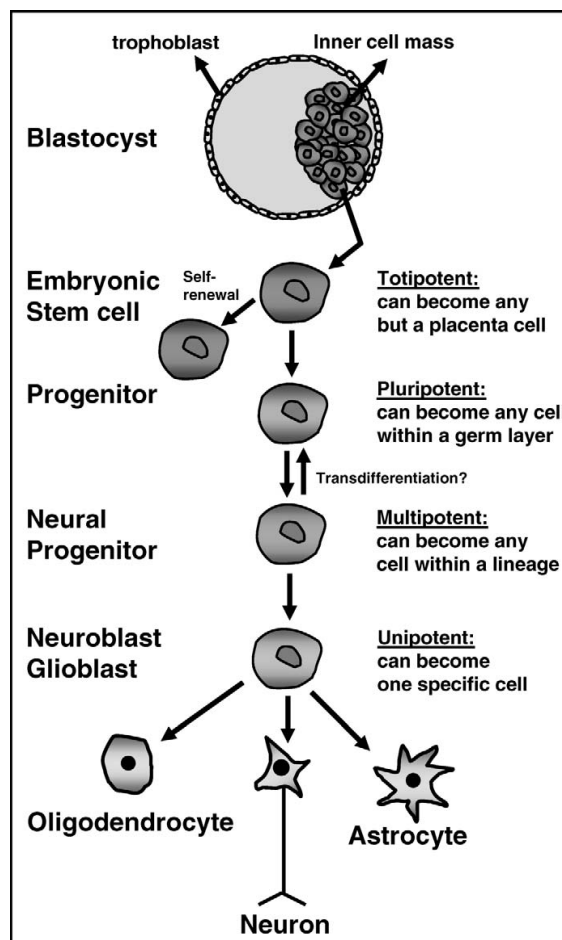


Figura 2. Etapas de diferenciación desde célula madre embrionaria hasta neurona. Fuente: (Nandoe Tewarie, Hurtado, Bartels, Grotenhuis, & Oudega, 2009)

DESARROLLO EMBRIONARIO DURANTE LA PRIMERA SEMANAS

Es importante recordar brevemente algo de embriología para entender de donde se obtiene las células ES, dentro de todo el desarrollo embriológico nos vamos a orientar en la primera semana de desarrollo, ya que en esta es de donde se pueden obtener las células ES. Luego de que el espermatozoide es liberado dentro de la vagina este hace su recorrido hasta la trompa de Falopio, que es el lugar usual donde sucede la fertilización del óvulo. Al encontrarse el espermatozoide con el óvulo se dan las diferentes fases de la fertilización (ver figura 3). 1) Paso del espermatozoide a través de la corona radiata del óvulo u oocito. 2) Penetración en la zona pelúcida. 3) Fusión de las membranas plasmáticas del espermatozoide y oocito. 4) Finalización de la segunda fase de división meiótica del oocito que genera un oocito maduro. 5) Ruptura de la membrana pronuclear (aquí se da la condensación de los cromosomas y su arreglo mitótico que lleva a la primera división del cigoto, en esta etapa tenemos un célula de 46 cromosomas).

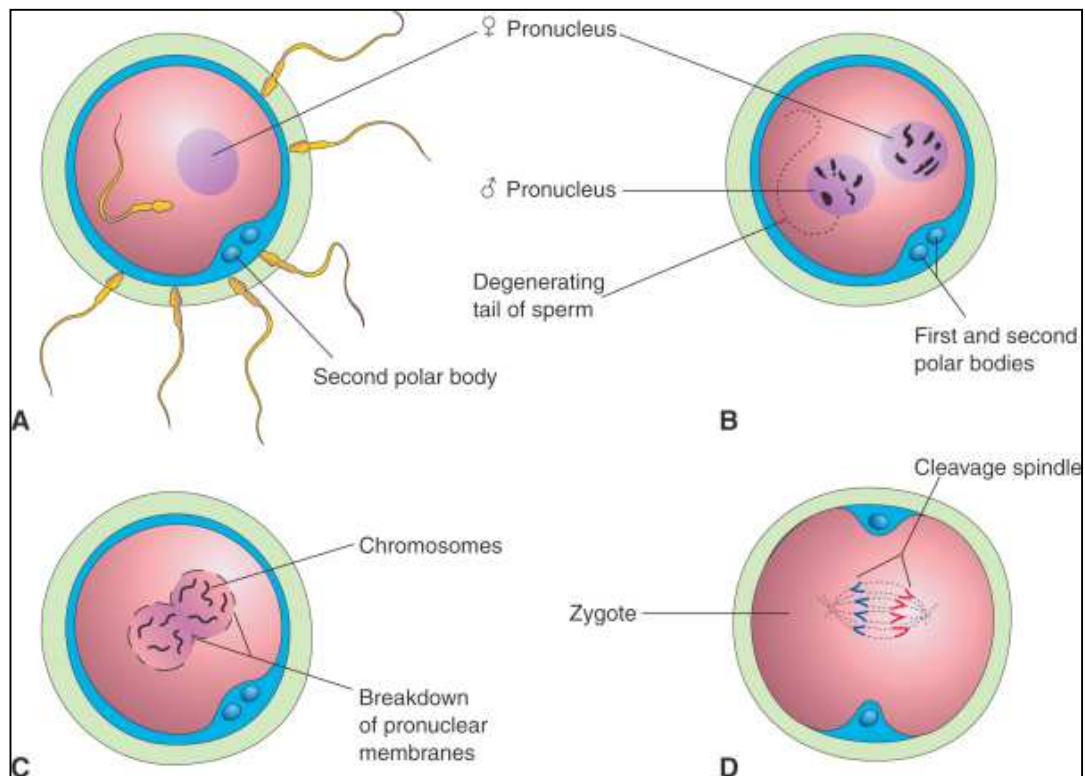


Figura 3. Ilustración de la fertilización. A) La corona radiada ha desaparecido, un espermatozoide ha entrado al oocito y la segunda división meiótica ha ocurrido, resultando en la formación de un oocito maduro. B) La cabeza del espermatozoide se ha agrandado para formar el pronúcleo masculino. C) Los pronúcleos se están fusionando. D) El cigoto se ha formado, este contiene 46 cromosomas, un número diploide. Fuente: (Moore & Persaud, 2008)

Al final de la fertilización se tiene la célula con 46 cromosomas y se inicia la división celular del cigoto la cual ocurre aproximadamente 30 horas posteriores a la fertilización. Las primeras células en aparecer se las denomina blastómeros, y en cada división van disminuyendo su tamaño. Esta división celular sucede mientras el embrión se desplaza en la trompa de Falopio que aún permanece dentro de la zona pelúcida. Al momento que esta división celular llega a la etapa de 8 células, los blastómeros se compactan en proceso denominado compactación; en esta etapa existe una mayor interacción celular la cual es prerequisite para la segregación de la masa celular interna. El momento que se tiene una división de 12 a 32 blastómeros se lo denomina mórula,

dentro de esta, la masa celular interna toma el nombre de embrioblasto y los blastómeros aplanados de la superficie toman el nombre de trofoblasto. El momento que esta mórula entra en la cavidad uterina (4 días posteriores a la fertilización), el líquido de esta misma atraviesa la zona pelúcida formando un espacio de líquido denominado cavidad blastocística. Mientras este líquido continúa ingresando las células de la mórula se diferencian a un más, formando una capa externa denominada trofoblasto y una masa celular interna denominada embrioblasto, para este momento el blastocisto se ha formado (figura 4).

Luego de que el blastocisto ha flotado durante 2 días aproximadamente en la cavidad uterina, la zona pelúcida desaparece permitiendo que el blastocisto aumente de tamaño. Aproximadamente 6 días luego de la fertilización el embrión se adhiere al tejido endometrial (figura 5), en ese momento la capa trofoblástica inicia un crecimiento rápido e inicia una diferenciación en dos capas: el citotrofoblasto (capa celular interna) y el sincitiotrofoblasto (capa celular externa).

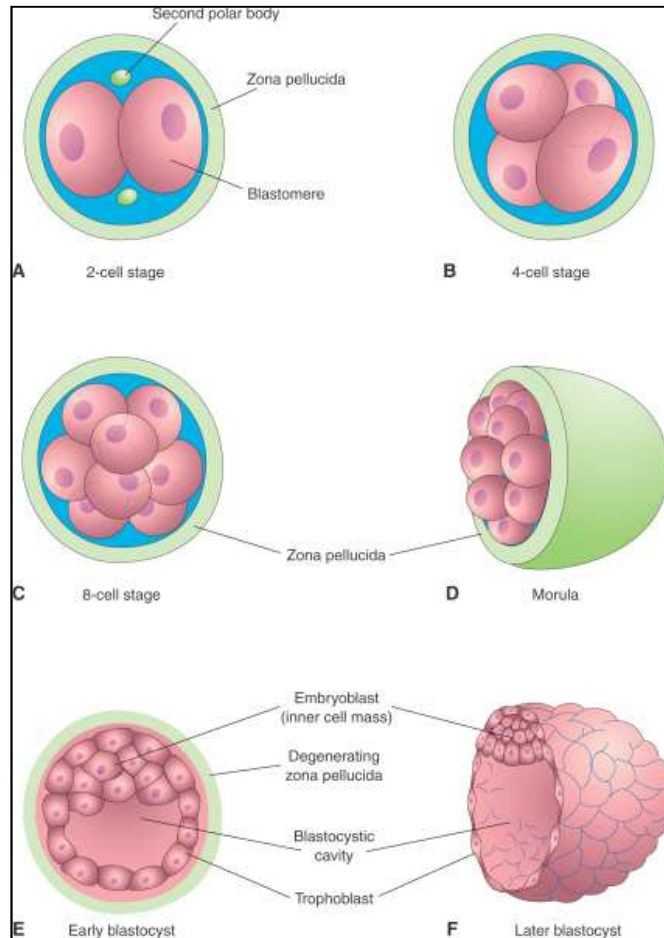


Figura 4. Ilustración de la división del cigoto y formación del blastocisto. A-D) Muestra los varios estadios de la división. El periodo de la mórula se inicia en la etapa de 12 a 32 células y se termina cuando el blastocisto se ha formado. E y F muestran las secciones del blastocisto. La zona pelúcida desaparece en el blastocisto tardío (5 días). Los cuerpos polares mostrados en A son células sin función que pronto se degeneran. Fuente: (Moore & Persaud, 2008)

El sincitiotrofoblasto se extiende en el epitelio endometrial, e invade el tejido conectivo endometrial para el final de la primera semana. El blastocito se entierra, prácticamente, en el endometrio gracias a enzimas proteolíticas del sincitiotrofoblasto que degradan el tejido materno endometrial. Para este momento una capa de células cuboides aparece en la superficie del embrioblasto, esta zona se denomina hipoblasto y se

ubica entre la masa celular interna y la cavidad blastocística. Con esto tenemos la primera semana del desarrollo embrionario que es la semana cuando se encuentran y se pueden obtener las células ES. (Moore & Persaud, 2008).

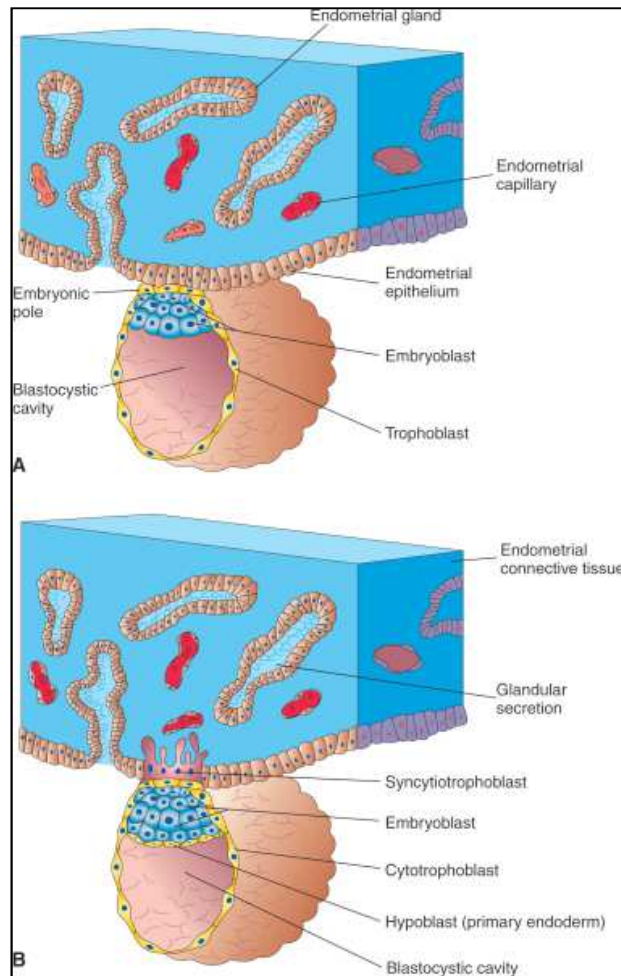


Figura 5. Unión del blastocisto al epitelio endometrial durante las etapas tempranas de su implantación. A) A sus 6 días el trofoblasto está adherido al epitelio endometrial por el polo embrionario del blastocisto. B) A los 7 días el sincitiotrofoblasto ha penetrado el epitelio y ha iniciado la invasión al tejido conectivo endometrial. Fuente: (Moore & Persaud, 2008)

PROPIEDADES DE LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Las células ES (*embryonic stem*), ya definidas anteriormente, son células con las características básicas de auto-renovación, diferenciación multilinear *in vitro* e *in vivo*, clonabilidad, un cariotipo normal, proliferación extensiva *in vivo* con condiciones ambientales adecuadas, y la habilidad de ser congeladas y descongeladas y mantener su función (Melton & Chad, 2006). Estas son características que encontramos en las células totipotenciales, es decir la célula primordial (el cigoto) y las células de la mórula. Estas son las células que tienen las características necesarias para formar un ser viviente, es decir poseen capacidad de formar el embrioblasto y el trofoblasto.

Las denominadas células ES son células que se obtienen en ratones para estudiarlas y cultivarlas, estas células se forman en el día 3 a 5 y se ubican en la masa celular interna. Estas son células pluripotentes, ya que tienen la capacidad de diferenciarse en cualquiera de los tres tejidos embrionales (ectodermo, endodermo y mesodermo), pero no tienen la capacidad de formar tejido extra-embrión. A pesar de que estas células tienen una duración finita en el embrión, el momento que son extraídas y colocadas en medios aptos para su adecuado desarrollo, estas pueden continuar con su auto-renovación, es decir se vuelven inmortales. Al momento de experimentar en células ES, es importante recalcar la necesidad de colocarlas a estas en un monocapa de células de ratón alimentadoras ya sea con o sin un medio de condición obtenido de células de teratóma. Estas son condiciones tisulares necesarias para mantener células ES, pero sobre todo ayudan a los investigadores aprovechar las extraordinarias propiedades que estas

células nos brindan, es decir la derivación, la propagación y la diferenciación (Yoder, 2009).

Derivación de células ES

Una de las principales propiedades que diferencian las célula ES de las célula madre adulta es su pluripotencialidad, a diferencia de la multipotencialidad que poseen las células madres adultas. Esto se suele probar en las células mES (*murine embryonic stem*, siglas en inglés) ya que al insertar una célula ES de un donante en un blastocisto receptor y luego colocándolo en un medio de pseudoembarazo, se puede analizar posteriormente la aparición de quimerismo tisular en el embrión desarrollado. Las células ES humanas (hES) obtenidas de blastocistos humanos (cultivadas en una monocapa de fibroblastos específicos de ratón con condiciones de crecimiento del medio especiales) también poseen la misma propiedad de pluripotencialidad, la misma que se demuestra con el desarrollo de teratoma en ratones inmunodeficientes (Yoder, 2009).

Propagación de células ES

Unas de las cualidades que más sorprende de las células ES es su capacidad de expandirse *in vitro* y mantenerse indiferenciadas, esta propiedad llevó a sospechar que el medio en que se cultivaban dichas células ayudaba a la capacidad de mantenerse indiferenciadas. Años después se descubrieron las moléculas presentes en el medio de cultivo a las que se les atribuía que proporcionaban la cualidad de propagación de las células ES; las moléculas descubiertas fueron: el factor inhibidor de leucemia (LIF) y la proteína morfogénica de hueso 4 (BMP4), las cuales junto al nicho de células alimentadoras pueden mantener inmortalas a las células mES. En el caso de las células hES se tiene que el LIF no es necesario para su inmortalidad, y al exponerlas a BMP4

estas inician el proceso de diferenciación. Se descubrió que para mantener la pluripotencialidad en las células hES es importante la señal Wnt y en datos recientes se ha visto la implicación de la vía activina/nodal y factor de crecimiento fibroblástico (FGF). Todo esto llevo a ver que no eran necesarios factores externos para mantener la pluripotencialidad, si no más bien factores intrínsecos (Yoder, 2009).

Diferenciación de células ES

Se ha visto que al retirar el LIF de las células mES se estimula la diferenciación, la cual se puede obtener de tres métodos diferentes: apilándolas, colocándolas en una capa de células alimentadoras permitiendo que interactúen, o situándolas con proteínas de matrices extracelulares. Pero lo más importante es que para cumplir la propiedad de diferenciación tienen que mostrar la funcionalidad esperada del tejido diferenciado *in vitro* como el mismo lo hace *in vivo*. Esta es una condición que no se ha llegado a obtener de manera satisfactoria (Yoder, 2009).

PROPIEDADES DE LAS CÉLULAS MADRE ADULTAS

Las células madres adultas son células clonables, auto-renovables y multipotentes que se encuentran en varios de los tejidos adultos. Estas células se vuelven específicas durante la embriogénesis según el tejido que van a formar, es decir estas pueden ser hematopoyéticas, intestinales, epiteliales etc. Su gran variedad es lo que dificulta su entendimiento con respecto a su origen, esto ha llevado a producir dos teorías de cómo estas aparecen durante la embriogénesis. La primera idea menciona que al igual que los tejidos, las células madres adultas se originan en el tejido embrional respectivo, es decir

del ectodermo se origina el tejido nervioso y la piel por lo que de ahí se forman las células madre de dichos tejidos (ver figura 6a).

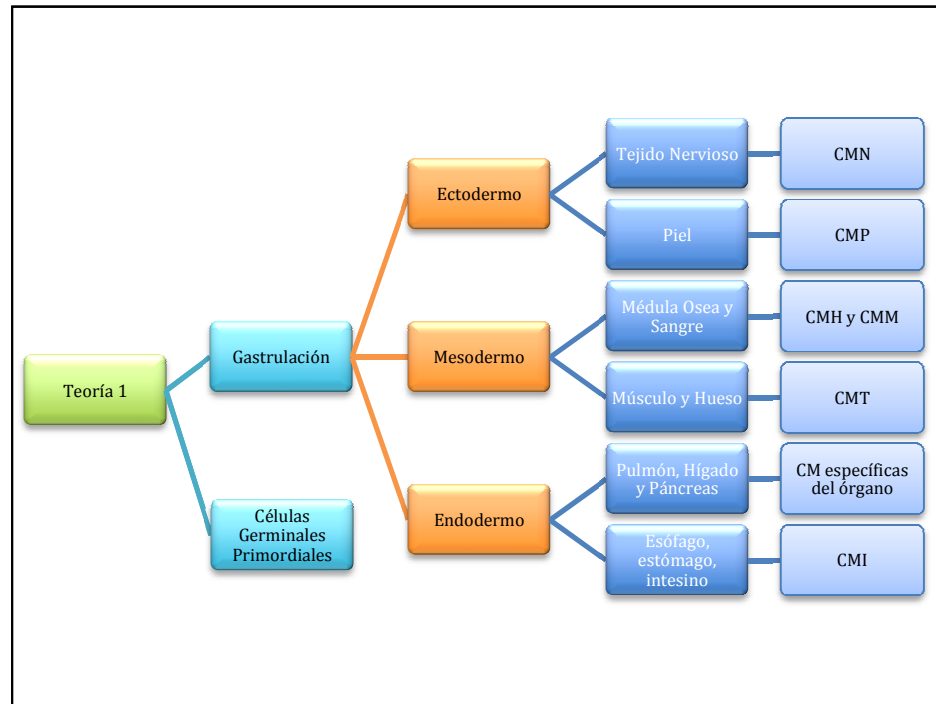


Figura 6a. Teoría sobre el desarrollo ontológico de las células madre. En este modelo el desarrollo de las células madre ocurre luego de la formación de las capas germinales. Fuente: (Gearhart, Pashos, & Prasad, 2007). CMM: células madre neuronales, CMP: células madre de la piel, CMH: células madre hematopoyéticas, CMM: células madre mesenquimales, CMT: células madre tisulares, CMI: células madres intestinales.

La segunda idea es que las células madres adultas multipotentes, al igual que las células primordiales germinales, se escapan (por así decirlo) de la gastrulación y diferenciación en tejidos embrionarios dando origen a las células madres adultas. Dentro de los varios tipos de células madres adultas dos son las que mejor entendimiento se tiene con respecto a su origen, las células madre hematopoyéticas (CMH) y las células madres neuronales (CMN) (ver figura 6b) (Melton & Chad, 2006).

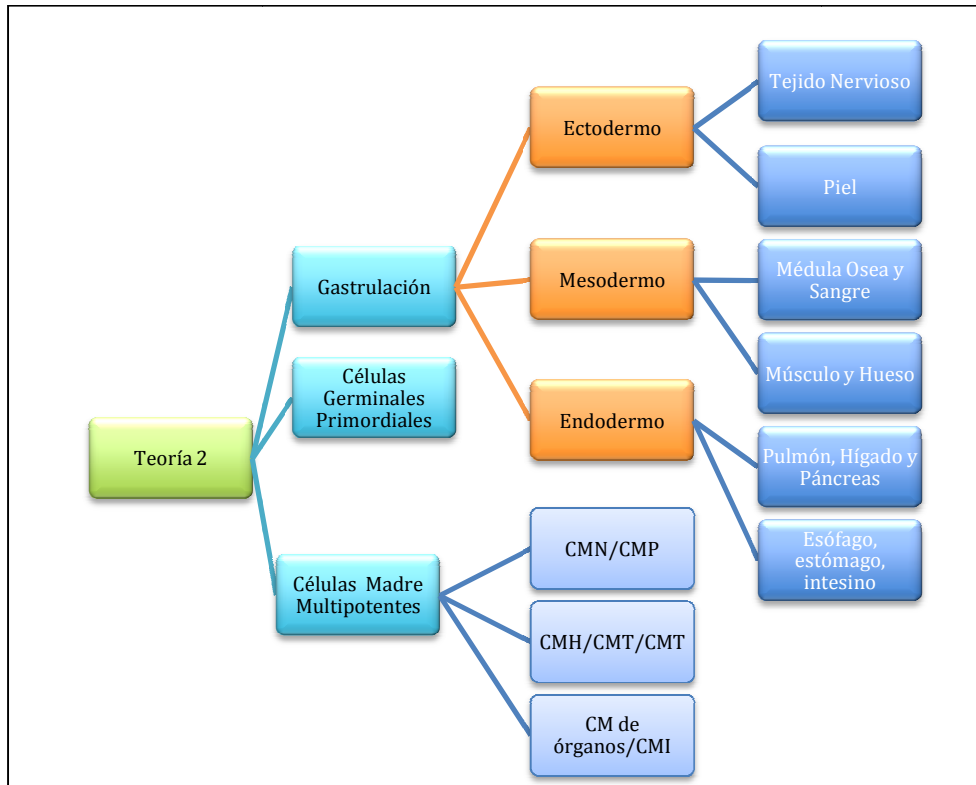


Figura 6b. Teoría sobre el desarrollo ontológico de las células madre. En este modelo el desarrollo de las células madre ocurre luego de la formación de las capas germinales. Fuente: (Gearhart, Pashos, & Prasad, 2007). CMM: células madre neuronales, CMP: células madre de la piel, CMH: células madre hematopoyéticas, CMM: células madre mesenquimales, CMT: células madre tisulares, CMI: células madres intestinales.

Se ha encontrado que las CMH aparecen luego de la gastrulación en los ratones, pero CMH con las mismas propiedades de las CMH adultas se han encontrado solamente en estadios embrionarios mediales (Weissman, 2000). El primer sitio de la hematopoyesis en el ratón es en el “yolk sac” extraembrionario, luego esta ocurre en la región intraembriónica aorta-gonada-mesonefros (AGM). El que de estos sitios se desarrolla el sistema hematopoyético adulto y las CMH es todavía un misterio. Por otro lado se tiene las CMN en las cuales se ha encontrado que su desarrollo al parecer se inicia con la formación del tejido nervioso a partir del ectodermo embrionario luego de la gastrulación. La frecuencia y lugar exacto de apareamiento de las CMN dentro del

neuroepitelio en desarrollo es aún desconocido (Melton & Chad, 2006). Un hallazgo interesante es que al parecer las CMN son células que adquieren información posicional y temporal, ya que al aislar CMN de diferentes lugares de la placa neural estas dan progenie según su lugar respectivo. De la misma manera se ha encontrado que CMN más “jóvenes” tienden a generar neuronas, mientras que CMN más “viejas” tienden a diferenciarse en células gliales. Otro hallazgo muy interesante es que CMN maduras son incapaces de desarrollar células apropiadas para estadios más tempranos del desarrollo neuronal (Temple, 2001). A pesar de que todavía hay un gran camino por recorrer en la que respecta a la ontogenia de las células madres y en especial la forma de aprovechar las células madres adultas para fines terapéuticos.

FASES DEL CICLO CELULAR

Es importante rescatar que las células madres adultas son las maestras cuando se habla de entrar y salir en la etapa G0 (Pollard & Earnshaw, 2008). Si recordamos las etapas de la división celular vemos que dicho proceso está constituido de 4 etapas fundamentales, que son las siguientes (figura 7):

1. Fase S: en esta sucede todo lo involucrado a la síntesis del DNA, es decir una célula diploide $2N$ se replica formando una célula tetraploidea $4N$. Esta fase puede ser extremadamente rápida, tomando unos minutos como en el embrión, o demorarse días como en los tejidos adultos.
2. Fase M: esta es al fase de la mitosis, es decir de la división celular. En esta fase tenemos cuatro subfases mas: profase, prometafase, metafase y telofase.

3. Fase G₁: esta es la fase entre la fase M y S, es el periodo en que la célula se prepara para una nueva división, es el periodo de crecimiento celular. Esta fase es la que controla el ritmo de proliferación, o sea, el tiempo que una célula pasa en G₁ es inversamente proporcional a su tasa de replicación. En esta fase se encuentra un punto clave, este punto se lo denomina punto R o restrictivo; este es el punto que al superarlo la célula inicia su etapa de síntesis de ADN sin importar los nutrientes o factores de crecimiento que tengan, en esta fase es donde la célula puede poner en STOP a la duplicación hasta tener los elementos necesarios.
4. Fase G₂: esta es al fase entre S y M, es una fase automática en donde la célula se prepara para dividir.
5. Fase G₀: esta es una fase que no entra en el ciclo celular, esta es una fase de no proliferación que las células pueden permanecer por mucho tiempo hasta ser estimuladas. Esta es la fase que las células madre permanecen hasta ser necesario su uso (Pollard & Earnshaw, 2008).

NICHOS DE CÉLULAS MADRE ADULTAS

A pesar de que los orígenes y la ubicación durante la embriogénesis de las células madres adultas no es claro, es lo contrario con respecto al adulto. Las células madres adultas se localizan normalmente en sitios específicos denominados nichos; en estos nichos las células madre no están completamente diferenciadas, pero poseen un potencial proliferativo controlado y robusto con la capacidad de auto-renovación y diferenciación

al momento de dividirse (Yoder, 2009). Esto hacía sospechar de que las células madre poseían estos

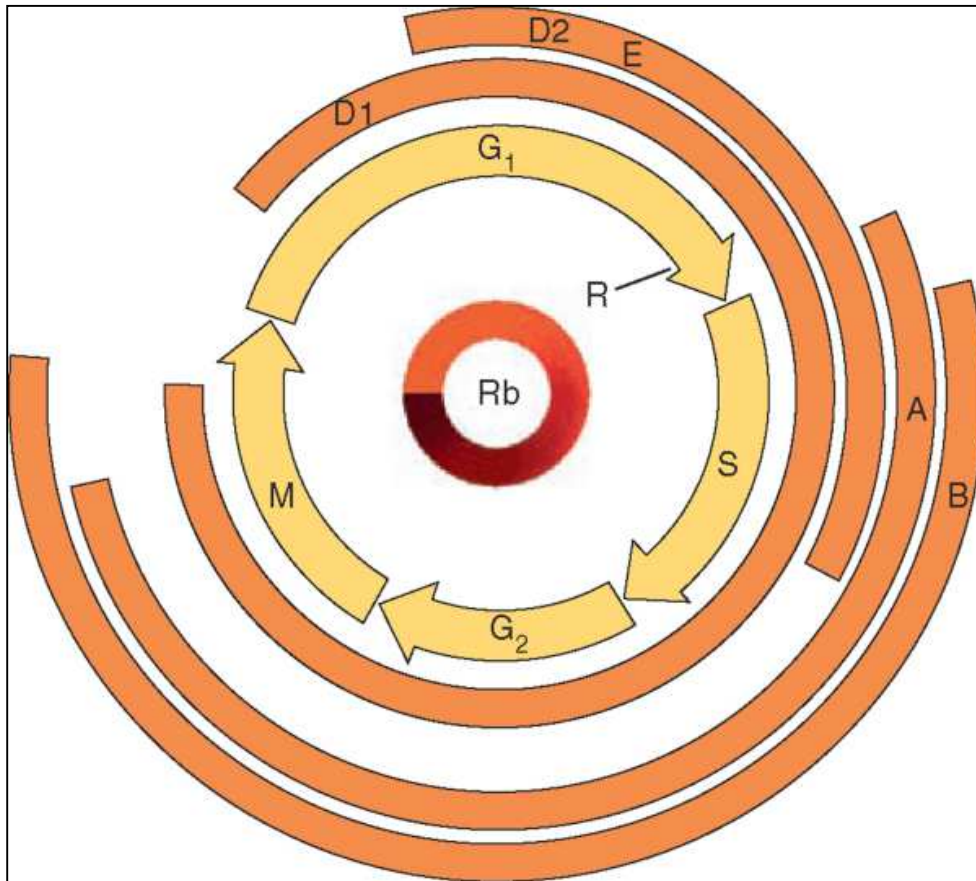


Figura 7. El ciclo celular. El ciclo celular somático está dividido en fases de replicación de ADN (S), mitosis (M) y las fases entre estas (G₁ entre M y S; G₂ entre S y M). G₀ no se muestra por simplificar el gráfico, pero fuese una flecha circular saliendo y entrando a G₁. El punto en G₁ tardío en el cual las células se comprometen a la replicación de ADN se denomina punto de restricción (R). El círculo interno muestra el patrón de la fosforilación de Rb durante el ciclo celular. Los lugares donde las ciclinas individuales (A, B, D1, D2, E) aparecen durante el ciclo celular está graficado por los arcos externos. Fuente: (Pollard & Earnshaw, 2008).

mecanismos regulatorios de manera intrínseca, pero estudios recientes han mostrado que los nichos ayudan mucho a mantener estas propiedades, al proporcionar microambientes protectivos y regulatorios (Li & Xie, 2005).

CÉLULAS MADRE ADULTAS SIMILARES A CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

A pesar de que existen diferencias marcadas entre las células madres adultas y las células madres embrionarias, estudios recientes han logrado que una célula madre adulta de ratón regrese a estado similar al de una célula madre embrionaria (Gearhart, Pashos, & Prasad, 2007). En este estudio se requirió escoger fibroblastos que puedan ser pluripotenciales, bajo el criterio de expresión de *Fbx15* (un gen que se expresa en células pluripotentes). Al tener dichos fibroblastos necesarios, estos fueron infectados con retrovirus que contenían los genes necesarios para inducir pluripotencialidad, los genes necesarios para dicha característica fueron *Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc*. Estas células similares a células madres embrionarias (ESL, *embryonic stem-like cells*) fueron capaces de producir teratomas al ser transplantadas en huéspedes inmunosuprimidos, pero fallaron en producir quimerismos en un adulto vivo (Takahashi K, 2006). Luego de este estudio se realizaron tres más en donde se obtuvieron células madres pluripotenciales de mayor calidad, las cuales fueron capaces de obtener quimerismos en un ratón adulto vivo. La variable que presentaron estos tres estudios independientes es en el proceso de selección de los fibroblastos. Takahashi y colaboradores escogieron fibroblastos que expresen *Fbx15*, un factor presente en células pluripotenciales, mientras que el resto de estudios escogió los fibroblastos que expresaban *Nanog* o *Oct3/4*, los cuales son factores necesarios para la pluripotencialidad (Gearhart, Pashos, & Prasad, 2007). A pesar de todo

estos avances el realizar estos estudios en células humanas es limitado ya que los factores necesarios para pluripotencialidad pueden diferir o ser más que los necesarios para los ratones. El poder generar una célula ESL humana promete mucho para la solución de problemas éticos involucrados en el uso de células ES en tratamiento de enfermedades, ya que el daño al embrión nunca sucedería y la potencialidad de esta es mucho mayor que cualquier otra célula madre adulta que son las que actualmente se utilizan hoy en día para muchos tratamientos.

CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

A pesar de todos los avances en el campo de las células madres embrionarias y adultas, las células madres adultas, a pesar de su menor potencialidad, siguen siendo las más utilizadas para terapias médicas. Esto se debe mucho a que las células embrionarias están en constante debate debido a sus implicaciones éticas y a su gran potencialidad de malignidad, ya que en experimentos animales al ser estas inyectadas en ratones inmunosuprimidos tienden a formar teratomas (Bhattacharya & Stubblefield, 2009). Con todo esto las células madres adultas son las preferenciales para aplicaciones clínicas; en especial las células madres hematopoyéticas (CMH) por sus grandes resultados para tratamientos de enfermedades hematológicas. La mayoría de tratamientos aplicados al momento han sido con células obtenidas de la médula ósea, ya sea del paciente o de algún donante. Pero con el descubrimiento de células madres hematopoyéticas y mesenquimales en el cordón umbilical, y sobre todo las ventajas que se tiene sobre las

extraídas en médula ósea, su uso ha ido aumentando para aplicaciones clínicas obteniendo buenos resultados.

Las células madre de sangre de cordón umbilical (SCU) fueron utilizadas por primera vez en los años 1960's. En estos años se consideró al cordón umbilical como una fuente de CMH en el estudio de Ende y Ende, donde utilizaron sangre de cordón umbilical para tratar un niño con leucemia. En este primer reporte se recolectó la SCU de 8 donantes y se infundió por 17 días en un niño de 16 años con leucemia linfoblástica aguda, la cual había sido manejada previamente con 6-mercaptopurina y prednisona. A pesar de que no se obtuvo reconstitución, se reportó una alteración en los antígenos de la sangre, esto sugirió un quimerismo por parte de una de las muestras transfundidas (Ende M, 1972). Con esto los estudios de Koike (Koike, 1983) y Vidal (Vidal, 1985) sugirieron que la SCU podría tener suficiente número de CMH para trasplantes, por lo que Koike mostró que existe la posibilidad de criopreservar las CMH manteniendo su viabilidad y capacidad proliferativa. Todos estos trabajos conllevaron a que en Octubre 6 de 1988 se dio con éxito el primer trasplante humano de SCU en un niño con anemia de Fanconi, en el cual se obtuvo con éxito quimerismo completo, tanto en la serie mieloide como en la serie linfóide (Gluckman E, 1989). Ahora se sabe que en el cordón umbilical existen células madres hematopoyéticas las cuales tienen la capacidad de diferenciarse en cualquier componente linfóide o mieloide; otros estudios han mostrado que en el cordón umbilical también se encuentra, en menor cantidad que las CMH, células madres mesenquimales (CMM). Las células madres mesenquimales son células madres multipotentes capaces de diferenciarse en el linaje del tejido conectivo, es decir pueden diferenciarse en hueso, cartílago, tejido adiposo y con condiciones de inducción

adecuadas tiene hasta la capacidad de convertirse en células similares a hepatocitos y neuroglías. Por estas propiedades estas células se denominan como pluripotenciales y se las categorizan también como células ESL's por la capacidad de diferenciarse en cualquiera de los tres tejidos primordiales (Oscar, Tom, & Chen, 2004). Pero las CMM no solo se encuentran en el cordón umbilical, también se las ha encontrado en la médula ósea y en el tejido adiposo (Zuk PA, 2002), pero debido a la complicada forma de recolección de estos dos últimos, el cordón umbilical sigue siendo una mejor alternativa de recolección de CMM.

El otro tipo de células madres que se encuentran en la SCU son las CMH las cuales también son células auto-renovables, diferenciables y multipotentes; se ha visto que estas células son más primitivas de que las que se encuentran en la médula ósea. Esto se ha observado en estudios de laboratorio en donde se ha mostrado un incremento en la frecuencia y en la capacidad proliferativa sobre las células madre de médula ósea. A pesar de que estas células se encuentran en un estado lento de G0/G1 su respuesta a la proliferación es bastante rápida (Broxmeyer, 2006). A parte de las diferencias en lo que respecta a su biología hay también ventajas y desventajas en lo que respecta al uso de CMH para trasplantes, ya sea de cordón umbilical o de médula ósea.

Las CMH pueden ser utilizadas ya sea para un trasplante alogénico o autólogo si el caso amerita. Actualmente las CMH que se usan para tratamientos clínicos son obtenidas, ya sea de médula ósea o de sangre periférica, únicamente para un uso inmediato. Por esta razón estas células son procesadas solo para cuestiones de separación del resto de componente de la sangre, a estas células no se las separa para poderlas criopreservar, como es el caso de las células madre hematopoyéticas de cordón umbilical

(CMH-CU). Este tipo de células suelen ser criopreservadas para ser utilizadas en un futuro y no de forma inmediata. La mayor ventaja que se observa de las CMH-CU sobre las CMH de médula ósea es, que debido a su inmadurez, el mismatch del antígeno leucocitario humano (HLA sus siglas en ingles) no necesariamente se correlaciona con un incremento en el riesgo de desarrollar una enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) (Grewal, Barker, Davies, & Wagner, 2003) (Gluckman, Rocha, & Boyer-Chammard, Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors, 1997) (Wagner, Barker, & DeFor, 2002). La sangre de cordón también posee otras ventajas sobre las CMH de médula ósea: el cordón umbilical posee una mayor concentración de células hematopoyéticas altamente proliferativa (Wang, Doedens, & Dick, 1997), pero posee un pequeño número de células madres (Hogan, EJ, & McNulty, 1997); otra ventaja es que la recolección de la sangre de cordón es más fácil y tiene una menor morbilidad y malestar para el paciente. Una de las desventajas de la sangre de cordón umbilical es el disminuido número de células madres que se pueden obtener, actualmente se recomienda que la dosis de células madre para un trasplante sea de 1.5×10^7 (Grewal, Barker, Davies, & Wagner, 2003) a 2.0×10^7 (Rocha, Labopin, & Sanz, 2004) (Gluckman, Hematopoietic stem-cell transplants using umbilical-cord blood, 2001), idealmente $> 4.0 \times 10^7$ de células nucleadas por Kg. de peso del receptor. Esta es la mayor desventaja frente al uso de las CMH-CU, la cual se está intentando de superar con el desarrollo de técnicas para poder aumentar la cantidad de CMH-CU.

Como se ha mencionado la cantidad necesaria para un trasplante de adulto de células madres hematopoyéticas suele ser muy elevado para lo que nos ofrece la sangre de cordón umbilical, por esta razón se han investigado posibles soluciones para aumentar

la cantidad de CMH-CU, soluciones como: unión de dos muestras de SCU y amplificación *ex vivo* de CMH-CU. Al momento todas estas soluciones están en etapa de estudio y algunos más avanzados que otros, pero al momento todavía no hay ninguna solución para el bajo número de CMH-CU. La unión de dos muestras causó preocupación en la comunidad científica al inicio, ya que podría ocasionar un rechazo bidireccional, a la final no se observó dicha situación en la práctica. En un estudio piloto de 23 pacientes con problemas mieloproliferativos, se mostró que el uso de doble muestra de SCU es seguro (Barker JN, 2005). En este estudio se realizó seguimiento de 23 pacientes manejados con trasplante doble de SCU en donde se encontró una recuperación mieloide en 23 días; la actualización de este estudio con 58 pacientes llegó a mostrar una recuperación mieloide de 91% en tan solo 42 días. A pesar de que se muestra que el utilizar doble muestra de SCU mejora la chance de recepción, hay un 57% de riesgo a 100 días de desarrollar enfermedad injerto vs. huésped de tipo II, III y IV. A pesar de esto se encontró enfermedad injerto vs. huésped de tipo II-IV en 16% de los pacientes y un rechazo completo del trasplante a 6 meses de 18%, la supervivencia a 2 años fue de 57%.

Por otro lado la amplificación de CMH-CU es algo que al momento falta mucho por avanzar, en estos últimos 10 años no se ha mostrado que exista alguna toxicidad al infundir CMH amplificadas, pero tampoco se ha visto una mejora clínica significativa. Esto se puede deber a que el diseño del estudio de la amplificación no fue adecuado ya que la muestra inicial de SCU se la dividió en dos, una dosis se administró al inicio y la siguiente se amplificó y se administró después. Con esto surgen dos problemas básicos: primero, debido a que las células amplificadas fueron infundidas después no se pudo saber si es que existió un impacto en la recuperación mieloide; segundo, no es posible saber

si las células exitosamente transplantadas fueron las expandidas o las no expandidas. Por esta razón se está iniciando estudios para poder determinar si las células amplificadas tienen funcionalidad biológica el momento del trasplante; por esta razón se está utilizando división de la SCU previa a criopreservación para que de esta manera se pueda transplantar la muestra original y la amplificada al mismo momento. Estas soluciones aparentan mostrar una futura solución para el problema del número de células madre de sangre de cordón umbilical.

EXPANSIÓN DE CMH DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL

Ya que las soluciones para el bajo conteo de células madres para tratamientos de trasplante en adultos continúan en fases de investigación, otros trabajos han surgido los cuales investigan los posibles factores maternos y neonatales que podrían influenciar en el conteo de CM-SCU. Se ha visto que en estudios anteriores sobre la relación entre factores maternos/neonatales y la cantidad de células madre CD34+ algunos patrones han empezado a emerger, se ha observado que el peso al nacimiento se relaciona positivamente con el conteo de células nucleadas totales y células madre CD34+ (Jones, Stevens, & Rubinstein, 2003) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004), también se observó que los infantes femeninos poseían mayor cantidad de células madres que los infantes de sexo masculino (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya,

2004). Con estos estudios focalizados a investigar los factores maternos y neonatales que influyen en las células nucleadas totales (CNT), en el volumen de SCU recolectado y en las CM-SCU o células madre CD34+ (por el marcador de superficie con el que se les reconoce) empezaron a aparecer. En estos se ha visto que el peso al nacimiento tiene una gran influencia en lo que respecta a las CNT y CD34+ contados (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Omori, et al., 2008) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004). Otro factor que continúa mostrando cierta influencia en la cantidad de células, es el sexo del infante (Mancinelli, et al., 2006), mientras que en otros estudios no se han encontrado valores significativamente diferentes entre ambos sexos (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007); por lo que aún permanece la duda si en realidad el sexo al nacer tiene alguna influencia en la cantidad de CNT y células madre CD34+. Un factor materno que al parecer tiene influencia en la cantidad de células recolectadas es la edad de la madre y su paridad. Se ha visto que en madres con su primer embarazo al ser ≤ 25 años presentan mayor cantidad de células, las cuales van disminuyendo al aumentar la edad y paridad de la mujer (Omori, et al., 2008) (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004). Por último se tiene que la edad gestacional con la que nacen los bebés tiene una relación estadísticamente significativa con la cantidad de células madre CD34+ y CNT (Jones, Stevens, & Rubinstein, 2003) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004) (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Omori, et al., 2008) (Askari, Miller, Chrysler, & McCullough, 2005).

METODOLOGIA

OBJETIVO GENERAL

Determinar los factores maternos, obstétricos, neonatales y geográficos que influyen con la cantidad de células totales nucleadas y células madre CD34+ recolectadas en sangre de cordón umbilical.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración media de células nucleadas, células madre CD34+ en las muestras de sangre de cordón umbilical
- Determinar el volumen medio de sangre de cordón umbilical obtenido en las muestras.
- Determinar si existe una diferencia en la concentración de células madre entre los niños nacidos en altitudes menores y mayores de 1000m.

DISEÑO DEL ESTUDIO

La primera etapa de este estudio consistió en la elaboración de una encuesta (Anexo 1) para recopilar los datos sobre antecedentes maternos, datos del embarazo y datos del bebé al nacimiento. Esta encuesta se envió vía email o se la realizó por vía telefónica, a cada cliente que decidió preservar las células madre de sangre de cordón umbilical en Biocells Discoveries. Los datos sobre la cantidad de células madre CD34+ y de células totales nucleadas se obtuvo de los registros que mantiene Biocells Discoveries sobre cada una de las muestras procesadas. Los datos de laboratorio y maternos/neonatales se tabularon en el programa estadístico SPSS para realizar el análisis estadístico, donde se realizaron pruebas de relación no paramétricas y de correlación.

TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio de cohorte retrospectivo de tipo descriptivo ya que se realizó una descripción y correlación de los factores maternos/neonatales y de los resultados de laboratorio obtenidas. Por otro lado es un estudio retrospectivo ya que se está recolectando datos pasados sobre la madre, bebe y las muestras de cordón umbilical.

POBLACION DEL ESTUDIO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

El universo consistió en todas las muestras que han sido procesadas y almacenadas en Biocells Discoveries, por lo que el marco muestral consiste en todo el universo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Todos los pacientes que hayan recolectado sangre de cordón umbilical y se le ha criopreservado en las instalaciones de Biocells Discoveries desde Abril del 2006 hasta Febrero del 2009.
- Todas las muestras que posean datos sobre el número de células nucleadas totales y el porcentaje de células madre CD34+ que hayan sido analizados en NetLab Ecuador.
- Las madres que llenen adecuadamente el cuestionario sobre el parto, el embarazo y el bebé.

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Las madres que no hayan respondido adecuadamente el cuestionario de factores maternos y neonatales.
- Clientes de Biocells de las que no se tengan datos de contacto.
- Las muestras que pertenecen a gemelos, ya que en los registros de Biocells no se tiene determinado que muestra es del primer gemelo y cual del segundo gemelo.

CATEGORIZACIÓN DE VARIABLES

- Total de células nucleadas: Es la variable dependiente numérica que consiste en el número de células nucleadas totales que se obtiene luego del proceso de separación, la cual se obtendrá de los archivos de Biocells Discoveries. No se la codificará se la manejará como una variable continua.
- Porcentaje de células CD34+: Variable dependiente numérica que consiste en el porcentaje de células madre de baja densidad o CD34+ del total de células nucleadas, la cual se obtendrá de los archivos de Biocells Discoveries. Se la tratará como una variable continua.
- Número de células CD34+: Variable dependiente numérica que consiste en el número de células madre de baja densidad o CD34+ la cual se obtendrá de multiplicar el número de células nucleadas totales por el porcentaje de CD34+. Se la tratará como una variable continua.
- Peso de la muestra de sangre de cordón umbilical: Variable dependiente numérica que consiste en el peso en gramos obtenidos de sangre de cordón umbilical recolectado en

las muestras, el cual se obtendrá de los archivos de Biocells Discoveries. Se la trató como una variable continua.

- **Altitud:** Esta variable independiente numérica se catalogó según la ciudad en donde se realizó el parto obteniéndose la altitud de dicha ciudad, dato que se obtendrá de la base de datos de Biocells Discoveries. Se la trató como una variable continua.
- **Edad de la madre al momento del parto:** Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de un cuestionario que se enviará por e-mail a las madres, la cual expresa la edad en años cumplidos de la madre al momento del parto que corresponde a la muestra procesada. Se la trató como una variable continua.
- **Grupo sanguíneo de la madre:** Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el tipo de grupo sanguíneo con factor Rh de la madre. Se codificó de la siguiente manera: A+ (0), A- (1), B+ (2), B- (3), AB+ (4), AB- (5), O+ (6), O-(7)
- **Grupo sanguíneo del padre:** Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el tipo de grupo sanguíneo con factor Rh del padre. Se codificó de la siguiente manera: A+ (0), A- (1), B+ (2), B- (3), AB+ (4), AB- (5), O+ (6), O-(7)
- **Madre fumó durante embarazo:** Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si la madre fumó durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- **# de cigarrillos por día:** Esta variable independiente se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si es que la madre

fuma especifica el numero de tabacos al día que fumó durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de manera continua.

- Padre fumó durante embarazo cerca de la madre: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de una cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si el padre fumó cerca de la madre durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- # de cigarrillos por día: Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de una cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si es que el padre fuma, especifica el número de tabacos al día que fumó durante el embarazo cerca de la madre que corresponde a la muestra procesada. Se le trató como una variable continua.
- Madre ingirió alcohol durante embarazo: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de una cuestionario que se envió por e-mail a las madres, expresa si la madre tomó alcohol durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- Presencia de anemia en el embarazo: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si la madre sufrió anemia durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- Presencia de hipertensión gestacional: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de una cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si la madre sufrió presiones elevadas $>140/90$ durante el embarazo que

corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).

- Presencia de preeclampsia en el embarazo: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si la madre sufrió de preeclampsia durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- Presencia de eclampsia en el embarazo: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si la madre sufrió de eclampsia durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- Presencia de Diabetes Gestacional: Esta variable independiente se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si la madre sufrió de diabetes gestacional es decir de valores elevados de glucosa >95 mg/dL en ayunas durante el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Es una variable categórica la cual se codificó de la siguiente manera: No (0), Si (1).
- Cambio en libras de peso durante el embarazo: Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el aumento de peso en kilogramos de la madre en el embarazo que corresponde a la muestra procesada. Su trato fue el de una variable continua.
- Número de embarazo: Esta variable independiente numérica se recolectara por medio de un cuestionario que se enviara por e-mail a las madres, la cual expresa el número de embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificara de manera continua.

- Número de abortos previo al embarazo: Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el número de abortos que sufrió la madre previos al embarazo que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de manera continua.
- Tipo de Parto: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el tipo de parto que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: parto normal (1), cesárea (2).
- Sufrimiento fetal durante labor: Esta variable independiente categórica que se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si existió sufrimiento fetal agudo, es decir si hubo disminuciones o aumentos de la frecuencia cardiaca fetal, durante el parto que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: no (0), si (1), no sabe (2).
- Presencia de meconio en líquido amniótico: Esta variable independiente categórica que se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa si se tuvo tinte meconial durante el parto que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: no (0), si (1), no sabe(2).
- Edad Gestacional del bebe el momento del parto: Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa un estimativo en semanas de la edad que tenía el bebe, que corresponde a la muestra procesada, al nacimiento. Se codificó de manera continua.
- Sexo del bebe: Esta variable independiente categórica que se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el sexo del

bebe que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: masculino (1), femenino (2).

- Peso del infante: Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa en gramos el peso del bebe, que corresponde a la muestra procesada, al momento del nacimiento. Se codificó de manera continua.
- Talla del infante: Esta variable independiente numérica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa en centímetros la talla del bebe, que corresponde a la muestra procesada, al momento del nacimiento. Se codificó de manera continua.
- Grupo sanguíneo del infante: Esta variable independiente categórica se recolectó por medio de un cuestionario que se envió por e-mail a las madres, la cual expresa el tipo de grupo sanguíneo con factor Rh del bebe que corresponde a la muestra procesada. Se codificó de la siguiente manera: A+ (0), A- (1), B+ (2), B- (3), AB+ (4), AB- (5), O+ (6), O-(7).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS Statistics 17. En el análisis se utilizaron estadísticas descriptivas como porcentajes, promedios con sus desviaciones estándar, así como histogramas de frecuencia. Se realizó una comparación de medias con prueba no paramétrica K independiente usando la prueba de Kruskal-Wallis. También se realizó correlaciones y regresiones lineales utilizando coeficientes de correlación paramétricos y no paramétricos.

MATERIALES

RECOLECCION DE LA MUESTRA Y PROCESAMIENTO

La recolección de la muestra se realiza de acuerdo al protocolo manejado en Biocells Discoveries. El protocolo que se utilizó para la recolección de la muestra es el siguiente: luego del parto (ya sea parto o cesárea) se coloca una doble grapa en el cordón umbilical a 3 o 6 cm desde el ombligo del recién nacido, se corta el cordón sobre las grapas. Luego de cortar el cordón se realiza una venopunción con el equipo de venoclisis en la vena umbilical, se deja que se llene la bolsa recolectora. La muestra es enviada al laboratorio donde se procesa la muestra. En este se centrifuga la muestra para separar las células de baja densidad CD34+ del resto de componentes de la sangre. Luego de la separación se extrae una muestra para determinar la cantidad de CNT y de células madre CD34+. La muestra centrifugada es luego criopreservada con nitrógeno líquido en contenedores especiales que mantienen las muestras en -170°C aproximadamente, para poderlas mantener durante una vida entera.

RECOLECCION DE DATOS

La recolección de los datos maternos y neonatales se realizó por medio de una encuesta la cual se envió vía email y vía telefónica. La encuesta se encuentra en el anexo 1. Los datos sobre la cantidad de células nucleadas totales y células madre CD34+ se obtuvo de las carpetas de Biocells Discoveries.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Desde Abril del 2006 hasta Febrero del 2009 recolectaron 750 muestras procesadas por Biocells Discoveries de las cuales solo 150 cumplieron con los criterios de inclusión, en donde se obtuvo los datos obstétricos y neonatales de 129 muestras. En la Tabla 1 se presenta las características de la población estudiada (anexo 2, tabla 1 completa).

Tabla 1. Características de las muestras de cordón umbilical y los factores maternos/neonatales (incompleta).								
		# (%)	Media	s.d.(+/-)	Mediana	Mínimo	Máximo	
MUE STRA S DE SAN GRE DE COR DON	CNT (x10 ⁸)	129	5,17	2,434	4,80	0,40	16,00	
	CD34+ (x10 ⁶)	129	16,27	8,888	15,18	1,32	43,56	
	Peso (g)	129	107,82	25,586	109,00	43	183	
	Región							
		Costa	41 (32)					
		Sierra	87 (68)					
	Edad materna		129	30,98	4,690	30,00	17	42
	# emb. prev.							
		0	47 (36.4)					
		1	45 (34.9)					
	2	25 (19.4)						
	≥ 3	12 (9.4)						
# de Abortos								
	0	93 (72.1)						
	1	28 (21.7)						
	≥ 2	8 (6.2)						
Peso ganado		129	26,74	10,982	25,00	-6	70	
Sexo del bebé								
	Masculino	70 (54,3)						
	Femenino	59 (45,7)						
Edad (semanas)		129	38,40	1,406	38,00	33	41	
Peso al nacer (g)		129	3188,02	516,171	3182,00	1470	4900	
Talla al nacer (cm)		129	49,04	3,022	49,00	36	57	

s.d.: desviación estándar; CNT: células nucleadas totales. Referirse a Anexo 2 para tabla completa.

UMBILICAL

En el estudio realizado se recolecto los datos de las muestras de cordón umbilical de 129 pacientes. Si nos referimos a la Tabla 1 se puede encontrar que el volumen medio es de 107, 82mL (+/-SD 25,6 mL) con el menor volumen siendo de 43ml y el mayor de 183mL. Al observar los datos de las CNT, encontramos que existe una media de 5,2 (+/-

SD 2,4) $\times 10^8$; con un valor mínimo de $0,4 \times 10^8$ y un máximo de 16×10^8 . Por último podemos encontrar que las células de baja densidad CD34+ tienen una media $16,3 (+/-SD 8,88) \times 10^6$ con un valor máximo de $43,6 \times 10^6$ y un mínimo de $1,3 \times 10^6$.

Al observar el gráfico 1a y 1b (anexo 3) se puede ver que la distribución de las CNT y de las células de baja densidad CD34+ es una distribución anormal, por lo que se utilizó pruebas no paramétricas para el estudio. En el gráfico 2 y 3, respectivamente, podemos observar que existe una correlación positiva entre CD34+ y volumen de la muestra al igual que TNC con el peso de la muestra.

FACTORES GEOGRÁFICOS

De las 129 muestras se observó que pertenecían a 6 ciudades principales (Quito, Latacunga, Ambato, Cuenca, Manta y Guayaquil) por lo que se agrupó en 2 grupos: Sierra (Quito, Cuenca, Ambato y Latacunga) y Costa (Manta y Guayaquil); donde las ciudades de la Sierra se encuentran sobre los 1000m de altura y las ciudades de la costa se encuentran por debajo de los 1000m de altura. Con esto tenemos 41 muestras de la Costa que es un 32% y 87 muestras de la Sierra que corresponde a un 68%. Con estos datos se encuentra una media de CNT de $5,3 \times 10^8$ en la Sierra y $5,0 \times 10^8$ en la Costa; mientras una media de células CD34+ de $16,4 \times 10^6$ en la Sierra y $16,2 \times 10^6$ en la Costa que no son estadísticamente significativas (tabla 2 en anexo 4).

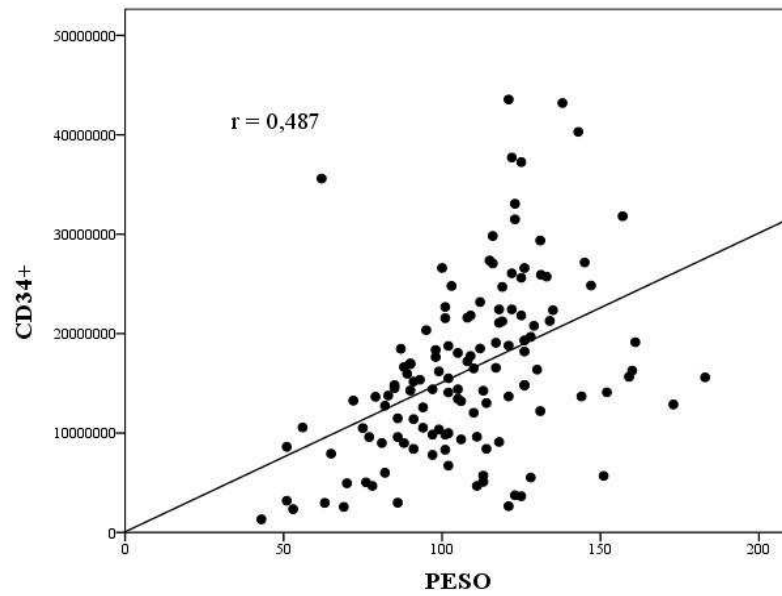


Gráfico 2. Correlación entre el peso de la muestra (g) y la cantidad de células madre CD34+.

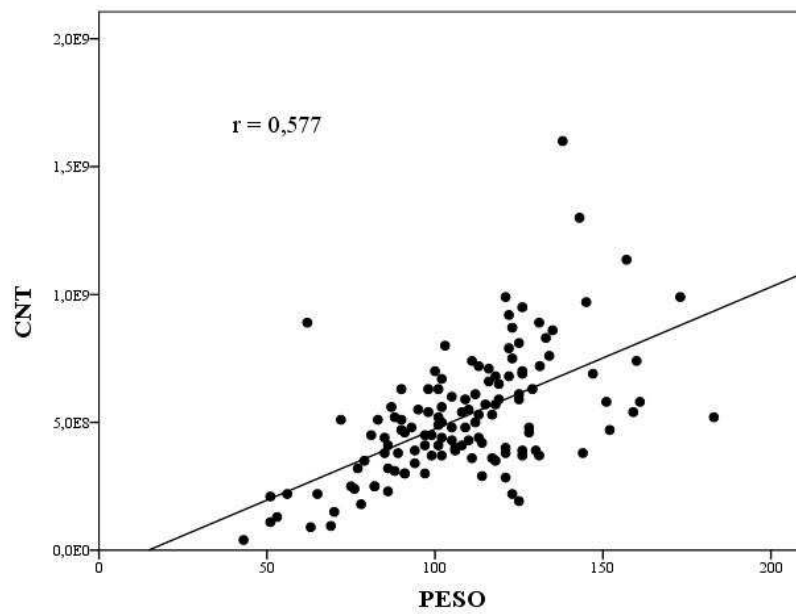


Gráfico 3. Correlación entre el peso de la muestra (g) y la cantidad de CNT. CNT: células nucleadas totales.

FACTORES MATERNOS

Se realizó el análisis estadístico entre los factores maternos obstétricos con las CNT y las células madre CD34+. Los factores maternos que se utilizaron en el análisis se presentan en la tabla 1, se analizó la edad materna el momento del parto, el tipo de sangre de la madre (se comparó tanto grupo ABO como grupo Rh), si fumó la madre o el padre en el embarazo, si sufrió en el embarazo anemia, hipertensión gestacional, preclampsia, eclampsia, diabetes gestacional y el peso ganado en el embarazo.

Al realizar el análisis estadístico con los factores maternos y obstétricos se que encontró que no existe ninguna correlación entre la edad materna al momento del parto con el número de CNT y de células CD34+. Tampoco se encontró relación estadísticamente significativa, ya sea de células CD34+ y de CNT, con: el tipo de sangre materna, si la madre o el padre fumaron en el embarazo, si presentó anemia durante el embarazo, si presentó eclampsia en el embarazo, el peso ganado durante el embarazo, el número de embarazos o de abortos.

En el caso de las CNT se encontró que existe una relación estadísticamente significativa con el tipo de parto ya que se tiene un valor p de 0,056, pero no hay relación significativa con respecto a las células CD34+ (tabla 3, anexo 4). No se encontró tampoco relación significativa de CNT con respecto a si ingirió alguna bebida alcohólica en el embarazo, si presentó hipertensión gestacional, preclampsia, o diabetes gestacional durante el embarazo; mientras que si se observó relación estadísticamente significativa entre estos factores maternos y el conteo de células CD34+ con $p < 0.05$ (tablas 4, 5, 6 y 7), pero en todos estos el número de sujetos es bastante bajo.

Tabla 4. Relación ingesta de alcohol en el embarazo, CNT y CD34+			
Ingirió Alcohol en embarazo		CNT	CD34+
Si	Media	$3,74 \times 10^8$	$6,39 \times 10^6$

	Desviación std.	2,47 x 10 ⁸	3,24 x 10 ⁶
	N	5	5
No	Media	5,23 x 10 ⁸	16,66 x 10 ⁶
	Desviación std.	2,43 x 10 ⁸	8,81 x 10 ⁶
	N	124	124
Valor p		0,174	0,005

CNT: células nucleadas totales

Tabla 5. Relación presencia de HTG, CNT y CD34+			
Presenta HTG en embarazo		CNT	CD34+
No	Media	5,23 x 10 ⁸	16,55 x 10 ⁶
	Desviación std.	2,43 x 10 ⁸	8,84 x 10 ⁶
	N	125	125
Si	Media	3,39 x 10 ⁸	7,31 x 10 ⁶
	Desviación std.	1,77 x 10 ⁸	4,87 x 10 ⁶
	N	4	4
Valor p		0,109	0,019

HTG: hipertensión gestacional; CNT: células nucleadas totales

Tabla 6. Relación presencia de PE, CNT y CD34+			
Presenta Preclampsia		CNT	CD34+
No	Media	5,22 x 10 ⁸	16,53 x 10 ⁶
	Desviación std.	2,44 x 10 ⁸	8,89 x 10 ⁶
	N	125	125
SI	Media	3,58 x 10 ⁸	7,97 x 10 ⁶
	Desviación std.	1,73 x 10 ⁸	2,41 x 10 ⁶
	N	4	4
Valor p		0,102	0,023

PE: Preclampsia; CNT: células nucleadas totales

Tabla 7. Relación presencia de DG, CNT y CD34+			
Presenta Diabetes Gestacional		CNT	CD34+
No	Media	5,19 x 10 ⁸	16,46 x 10 ⁶
	Desviación std.	2,44 x 10 ⁸	8,81 x 10 ⁶
	N	127	127
Si	Media	4,07 x 10 ⁸	3,86 x 10 ⁶
	Desviación std.	1,74 x 10 ⁸	1,73 x 10 ⁶
	N	2	2
Valor p		0,486	0,033

DG: Diabetes gestacional; CNT: células nucleadas totales

FACTORES NEONATALES

Para este análisis estadístico, como se muestra en la tabla 1, se utilizaron los siguientes factores neonatales: si padeció sufrimiento fetal agudo en la labor de parto, si presentó meconio el momento de nacer, el sexo del bebe, la edad en semanas al nacimiento, el tipo de sangre, el peso y talla al nacimiento. En los factores de sufrimiento fetal agudo y presencia de meconio en el nacimiento, no se encontró ninguna relación estadísticamente significativa. En el caso de el sexo (tabla 8), el tipo de sangre del bebe (según grupo ABO y Rh), la edad al nacimiento (gráfico 4a y 4b, anexo 5), el peso (gráfico 5a y 5b, anexo 5) y la talla (gráfico 6a y 6b, anexo 5) no se encontró ninguna relación estadísticamente significativa con la cantidad de CNT o de células CD34+. En los gráficos se puede observar claramente que no hay una distribución adecuada y el coeficiente de correlación (r) es menor a 0,4 en todas estas distribuciones, lo que significa que hay una muy pobre correlación. Por esta razón se codificó las variables de peso y de edad de diferente manera, es decir se las pasó a variables categóricas en vez de continuas. Se categorizó la variables de peso en: extremo bajo peso ($< 1000g$), muy bajo peso ($1001g - 1500g$), bajo peso ($1501g - 2500g$), peso adecuado ($2501g - 3501g$), peso elevado ($> 3501g$); de la misma manera se transformó la edad según las siguientes categorías: recién nacido pretérmino (RNpT < 36 semanas, recién nacido a término (RNAT 37 a 42 semanas) y recién nacido post término (RNPT > 42 semanas). Con esto encontramos que la relación entre el peso recodificado, y la CNT y las células CD34+ (tabla 9, anexo 5) no es estadísticamente significativo ya que se tiene valores $p > 0,05$. Mientras que en la relación de la edad recodificada (tabla 11) solo encontramos 2 de los 3 grupos codificados (RNpT y RNAT) en donde al relacionarlos con la cantidad de CNT y

la cantidad de células CD34+ se tienen valores de $p < 0,05$ estadísticamente significativos, mostrando una relación entre estas tres variables.

Tabla 10. Relación entre la edad del bebé al nacimiento, CNT y CD34+			
Edad		CNT	CD34+
RNpT	Media	$3,85 \times 10^8$	$10,89 \times 10^6$
	Desviación std.	$1,92 \times 10^8$	$7,80 \times 10^6$
	N	13	13
RNAT	Media	$5,32 \times 10^8$	$16,87 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,44 \times 10^8$	$8,83 \times 10^6$
	N	116	116
Valor p		0,014	0,006

RNpT: recién nacido pre-término; RNAT: recién nacido a término; CNT: células nucleadas totales

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este estudio se analizó los factores maternos, neonatal y geográficos que influyen en la cantidad de células madre CD34+ y de células nucleadas totales de la sangre de cordón umbilical; en este estudio se realizó el análisis de 129 muestras de cordón en donde se encontró que la media de CNT es más baja que la media encontrada en otro estudio (Askari, Miller, Chrysler, & McCullough, 2005), pero que la media de peso de cada muestra y de la cantidad de células CD34+ es mayor que la de estudios presentados anteriormente (TNC: $5,2 \times 10^8$ vs. $11,8 \times 10^8$; CD34+: $16,3 \times 10^6$ vs. $x \times 10^6$; peso: 107,8g vs. 85,2g). Se vio que con esto las muestras recolectadas por Biocells Discoveries manejan medias más elevadas que las recolectadas en otros estudios, a excepción de las CNT. Se ha observado claramente en varios estudios que el nivel de las células de baja densidad CD34+ y de las CNT se ve influenciado por factores maternos y neonatales (Jones, Stevens, & Rubinstein, 2003) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai,

& Suzuya, 2004) (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Omori, et al., 2008). En este estudio se observó que el peso de la muestra se relaciona con la cantidad de TNC y de CD34+ lo cual se ha mostrado en los estudios mencionados anteriormente. Por otro lado dentro de la variable altitud se encontró que no existe ninguna diferencia entre las muestras recolectadas en altitudes menores o mayores a 1000m.

Al analizar los factores maternos que influyen el conteo de CD34+ y de CNT se encontró que durante el parto normal se tiene mayor cantidad de células nucleadas totales pero sin ninguna relación estadísticamente significativa en el caso de las células madre CD34+, a pesar que al ver las medias se tiene que la media de CD34+ es mayor que la de cesárea, pero con un valor p no significativo (tabla 4). También se encontró que las mujeres que ingirieron cualquier cantidad de alguna bebida alcohólica durante su embarazo presentaron menor cantidad, tanto de células CD34+ como de CNT (tabla 5). En el caso de esta variable fuera interesante para estudios posteriores indagar más en la cantidad o frecuencia con la que tomaban bebidas alcohólicas y como influyen en la cantidades de células CD34 y CNT. Al seguir con nuestro análisis se observó que las madres que presentaron tanto preclampsia, HTG o diabetes gestacional presentaron un menor número de células CD34+ en sus muestras, pero no de CNT. Este tipo de hallazgos no está descrito en ninguno de los estudios mencionados anteriormente, lo que lleva a intentar indagar más en este aspecto de la historia obstétrica. Hay que resaltar que el número de sujetos que presentaron estas condiciones fue de tan solamente uno, por lo que fuera interesante ver si sigue existiendo una relación estadísticamente significativa al incluir más sujetos que padezcan estas condiciones. Con lo que respecta a la edad de la

madre no se encontró ninguna influencia en la cantidad de células madre CD34+ o de CNT, lo cual se ratifica en otros estudios. (Omori, et al., 2008) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004) (George, Schmitz, Niethammer, & Gratwohl, 1998) (Mancinelli, et al., 2006). En este estudio no se encontró ninguna relación estadísticamente significativa entre la cantidad de células CD34+ con el número de embarazos y la edad de la madre en su primer parto, esto contradice lo que se encontró en otros estudios, ya que se ha encontrado que hay diferencia de la cantidad de CD34+ en madres más jóvenes (< 25 años), y donde el primer embarazo se presenta con una cantidad casi del doble que en el segundo embarazo (Omori, et al., 2008) (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004); mientras se ha visto en este estudio que la cantidad de CNT no se relaciona con los números de embarazos previos, esto también se demuestra en otro estudio (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004).

En el análisis de los factores neonatales se observó que la presencia de sufrimiento fetal agudo y de meconio no se relaciona con la cantidad de células CD34+ lo cual contradice lo encontrado en otro estudio (Askari, Miller, Chrysler, & McCullough, 2005). Por otro lado en este estudio no se encontró ninguna correlación estadísticamente significativa entre la cantidad de células CD34+ y CNT con el peso; esto contradice lo encontrado en algunos otros estudios que muestran una clara correlación entre el peso y la cantidad de células CD34+ y CNT (Jones, Stevens, & Rubinstein, 2003) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004) (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Omori, et al., 2008) (Askari, Miller, Chrysler, & McCullough, 2005). Pero al codificar esta variable de peso en una variable categórica

(ver resultados) se encuentra un claro aumento en la media según la categoría de peso va aumentando pero no se tiene un valor p estadísticamente significativo. De la misma manera no se encontró ninguna relación entre la cantidad de células CD34+ y CNT con la talla al nacimiento, relación que tampoco se reporta en ninguno de los estudios mencionados. En el análisis del género del bebe no se encontró ninguna relación estadísticamente significativa entre si las mujeres tienen mejor conteo de células que la de los varones, lo cual contradice lo encontrado en un estudio (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004) pero es respaldado con lo encontrado en otro estudio (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007).

Por último en este estudio no se encontró correlación entre la edad gestacional en semanas y la cantidad de células, pero al codificar esta variable en una variable categórica (ver resultados) se encontró claramente que hay una disminución en la cantidad de células, tanto CD34+ y CNT, en los bebes que son pretérmino. Por lo que se ve que en bebes a término hay mayor cantidad de células madre CD34+ y CNT, lo cual también se ha mostrado en estudios anteriores (Jones, Stevens, & Rubinstein, 2003) (Nakagawa, Watanabe, Kawano, Kanai, & Suzuya, 2004) (McGukin, Basford, Hanger, Habibollah, & Forraz, 2007) (Ballen, et al., 2001) (Omori, et al., 2008) (Askari, Miller, Chrysler, & McCullough, 2005).

En este estudio realizado se pudo observar que realmente existen factores maternos y neonatales que afectan la cantidad de células madre CD34 y CNT lo cual se respalda con los otros estudios internacionales. Lo encontrado en los factores maternos de preclampsia, eclampsia e HTG, donde se observó que al presentar estas condiciones hay una disminución de en la cantidad de CD34+ es un hallazgo que no está reportado en la

literatura revisada; lo cual es muy interesante de investigar ya que el número de sujetos que presentaron esta condición es muy escaso, lo cual se puede deber a que la incidencia de estas condiciones es baja en el embarazo y las mujeres que optan por el servicio de criopreservación de células madres tiene un mejor acceso a la salud, por lo que lleva embarazos mejor controlados. El hallazgo que más llama la atención en este estudio es que no se encontró ninguna relación entre el peso al nacer y la cantidad de células CD34+ y de CNT, hallazgo que se repite constantemente en la literatura revisada. Podemos concluir que posiblemente este hallazgo se debe a que se manejó un bajo número de casos, ya que al ser un estudio retrospectivo muchas madres fallaron en responder el cuestionario y muy probablemente los datos proporcionados no fueron los más certeros. Para futuros estudios se recomienda que se realice un estudio prospectivo con un método más certero de recolección de datos, ya sea de historias clínicas hospitalarias o un formulario que se responda el momento del parto y sea llenado por el residente o el médico tratante.

En resumen este estudio encontró que el peso, cantidad de células madre CD34+ es mayor que al manejado en otros centros, mientras que el de TNC es ligeramente menor pero sobrepasa los estándares establecidos para realizar un transplante de sangre de cordón umbilical; los cuales son de 2.0×10^7 CNT/Kg. para adultos y 3.7×10^7 CNT/Kg. para niños (Mancinelli, et al., 2006). También se encontró que las madres que padecen de HTG, preclampsia y diabetes gestacional tienen menor cantidad de células madre CD34+, mientras que las madres que dan a luz por vía vaginal tiene mejores conteos de CNT. Por último se observó que al tener un bebe que sea a término, es decir de 37 a 42 semanas presenta mayor cantidad de células madre CD34+ y CNT.

BIBLIOGRAFÍA

- Askari, S., Miller, J., Chrysler, G., & McCullough, J. (2005). Impact of donor- and collection-related variables on product quality in ex utero cord blood banking . *Transfusion* , 45, 189-194.
- Ballen, K. K., Wilson, M., Wu, J., Ceredona, A. M., Hsieh, C., Stewart, F. M., et al. (2001). Bigger is better: maternal and neonatal predictors of hematopoietic potential of umbilical cord blood units. *Bone Marrow Transplantation* , 27, 7-14.
- Barker JN, e. a. (2005). Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* , 105, 1343.
- Bhattacharya, N., & Stubblefield, P. (2009). Frontiers of Cord Blood Science. *New England Journal of Medicine* , 361, 319.
- Broxmeyer, H. E. (2006). Cord Blood Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. In R. Lanza, J. Gearhart, & B. Hogan, *Essentials of Stem Cells Biology* (pp. 133-137). Burlington, MA, USA: Elsevier Academic Press.
- Copelan, E. A. (2006). Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *New Engl J Med* , 354, 1813-1826.
- Ende M, E. N. (1972). Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood. *Virginia Med J* , 99, 276.
- Gardner, R. L. (2006). Present Perspective and Future Challenges. In R. Lanza, J. Gearhart, B. Hogan, D. Melton, & R. Pedersen, *Essentials in Stem Cell Biology* (pp. 1-2). Burlington, MA, USA: Elsevier Academic Press.
- Gearhart, J., Pashos, E. E., & Prasad, M. K. (2007). Pluripotency Redux — Advances in Stem-Cell Research. *New Engl Jour Med* , 357, 1469.

George, T. J., Schmitz, N., Niethammer, D., & Gratwohl, A. (1998). Allogenic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumors and immune disorders: Current practice in Europe in 1998. Accreditation Sub-Committee of European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* , 21, 1-7.

Gluckman E, e. a. (1989). Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *New England Journal of Medicine* , 321, 1174.

Gluckman, E. (2001). Hematopoietic stem-cell transplants using umbilical-cord blood. *New England Journal of Medicine* , 344, 1860.

Gluckman, E., Rocha, V., & Boyer-Chamard, A. (1997). Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *New England Journal of Medicine* , 337, 373.

Grewal, S., Barker, J. N., Davies, S., & Wagner, J. (2003). Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood* , 101, 4233.

Higgs, D. R. (2008). A New Dawn for Stem-Cell Therapy. *New England Journal of Medicine* , 358 (9), 964.

Hogan, C., EJ, S., & McNulty, O. (1997). Engraftment and development of human CD34(+)- enriched cells from umbilical cord blood in NOD/LtSz-scid/scid mice. *Blood* , 90, 85.

International Society for Stem Cell Research. (2008, Marzo 18). *Glossary of Stem Cell-Related Terms*. Retrieved Noviembre 14, 2009, from International Society for Stem Cell Research: <http://www.isscr.org/public/glossary.htm#Totipotent>

Jones, J., Stevens, C., & Rubinstein, P. (2003). Obstetric Predictors of placental/umbilical cord blood volume for transplantation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* , 23, 1105-1012.

Koike, K. (1983). Cryopreservation of pluripotent and committed hemopoietic progenitor cells from human bone marrow and cord blood. *Acta Paediatr Jpn* , 25, 275.

Li, L., & Xie, T. (2005). Stem Cell niche: Structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol* , 17, 605.

Lubin BH, G. M. (2009, 02 6). *Collection and storage of umbilical cord blood for hematopoietic cell transplantation*. Retrieved 9 18, 2009, from UpToDate: www.uptodate.com

Mancinelli, F., Tamburini, A., Spagnoli, A., Malerba, C., Suppo, G., Lasorella, R., et al. (2006). Optimizing umbilical cord blood collection: Impact of Obstetric factors versus quality of cord blood units. *Transplantation Proceedings* , 38, 1174-1176.

McGukin, C. P., Basford, C., Hanger, K., Habibollah, S., & Forraz, N. (2007). Cord blood revelations - The importance of being a first born girl, big, on time, and to a young mother. *Early Human Development* , 83, 733-741.

Melton, D. A., & Chad, C. (2006). "Stemness": Definitions, Criteria and Standards. In L. Robert, G. John, H. Brigid, M. Douglas, & R. Pedersen, *Essentials of Stem Cell Biology* (pp. xxv-xxx). Burlington, MA, USA: Elsevier Academic Press.

Moore, K. L., & Persaud, T. (2008). *Before we are Born: Essential of Embriology and Birth Defects* (7th Edition ed.). Filadelfia, PA, USA: Saunders Inc.

Nakagawa, R., Watanabe, T., Kawano, Y., Kanai, S., & Suzuya, H. (2004). Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. *Transfusion* , 44, 262-267.

Nandoe Tewarie, R. S., Hurtado, A., Bartels, R. H., Grotenhuis, A., & Oudega, M. (2009). Stem Cell-Based Therapies for Spinal Cord Injury. *The Journal of Spinal Cord Medicine* , 32 (2), 105-114.

Omori, A., Takahashi, K., Hazawa, M., Misaki, N., Ohba, H., Manabe, M., et al. (2008). Maternal and neonatal factors associated with the high yield of mononuclear low density/CD34+ cells from placental/umbilical cord blood. *Tohoku J. Exp. Med.* , 215, 23-32.

Oscar, L. K., Tom, K. K., & Chen, W.-M. (2004). Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* , 103, 1669-1675.

Pollard, T. D., & Earnshaw, W. C. (2008). *Cell Biology*. Filadelfia, PA, USA: Elsevier.

Rocha, V., Labopin, M., & Sanz, G. (2004). Transplants of Umbilical-Cord Blood or Bone Marrow from Unrelated Donors in Adults with Acute Leukemia. *New England Journal Of Medicine* , 351, 2276.

Solves, P., Perales, A., Mirabet, V., Blasco, I., Blanquer, A., Planelles, D., et al. (2004). Optimizing Donor Selection in cord blood bank. *Eur J Haematol* , 72, 107-112.

Stewart BL, S. B. (2004). Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease. *Blood* , 104, 3501-3506.

Takahashi K, Y. S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* , 126, 663-676.

Temple, S. (2001). The development of neural stem cells. *Nature* , 414, 112-117.

Vidal, J. (1985). Nature and characterization of granulocyte-macrophage precursors in cord blood.

Wagner, J., Barker, J., & DeFor, T. (2002). Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* , 100, 1611.

Wang, J., Doedens, M., & Dick, J. (1997). Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. *Blood* , 90, 3919.

Weissman, I. L. (2000). Stem Cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* , 100, 157-168.

Yoder, M. C. (2009). Overview of Stem Cell Biology. In R. Hoffman, E. J. Benz, & S. J. Shattil, *Hematology: Basic Principles and Practice* (5th edition ed.). Philadelphia, PA, USA: Churchill Livingstone.

Zuk PA, Z. M. (2002). Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cel* , 13, 4279-4295.

ANEXO 1

CUESTIONARIO SOBRE FACTORES MATERNOS Y NEONATALES

Instrucciones:

1. Conteste las siguientes preguntas en los campos proporcionados o en las opciones presentadas.
2. Guarde el documento al terminar el cuestionario.
3. Envíe el documento como archivo adjunto a la siguiente dirección: biocells.investigacion@gmail.com.
4. Cualquier inconveniente o interrogante sobre el cuestionario referirse a la misma dirección.

Recuerde que las siguientes preguntas son en base al embarazo perteneciente a su primera muestra criopreservada con nuestra empresa.

Le recordamos que el siguiente cuestionario es confidencial y su información será utilizada únicamente para el fin del estudio. Se le agradece que responda todas las preguntas del cuestionario de la manera más honesta y adecuada.

1. DATOS PERSONALES

- 1.1.Nombre: _____.
- 1.2.Apellido: _____.
- 1.3.Ciudad donde se realizó el parto: _____.
- 1.4.Ciudad donde permaneció la mayor cantidad de tiempo durante su embarazo:_____.
- 1.5.Edad (su edad en años cumplidos cuando dió a luz): _____ años.
- 1.6.Grupo Sanguíneo de la madre:
- 1.7.Grupo Sanguíneo del padre de su bebé:

2. ANTECEDENTES PERSONALES

- 2.1.¿Fumó durante el embarazo?
 - 2.1.1. No. (Continuar a pregunta 2.4)
 - 2.1.2. Si. (Continuar a pregunta 2.3)
- 2.2.Número de tabacos por día que fumó durante el embarazo _____ tabacos/día.
- 2.3.¿Fumó su esposo durante el embarazo cerca suyo?
 - 2.3.1. No. (Continuar a pregunta 2.6)
 - 2.3.2. Si. (Continuar a pregunta 2.5)

- 2.4. Número de tabacos por día que fumó su pareja cerca suyo (aproximadamente) durante el embarazo. _____ tabacos/día.
- 2.5. ¿Ingirió bebidas alcohólicas durante su embarazo?
- 2.5.1. No.
- 2.5.2. Si.
- 2.6. ¿Sufrió de anemia durante el embarazo?
- 2.6.1. Si
- 2.6.2. No
- 2.7. ¿Sufrió de hipertensión gestacional durante el embarazo, es decir tenía una presión mayor de 140/90?
- 2.7.1. Si
- 2.7.2. No
- 2.8. ¿Sufrió de preclampsia durante su embarazo? (Presión arterial elevada, hinchazón, proteínas en orina)
- 2.8.1. Si
- 2.8.2. No
- 2.9. ¿Sufrió de eclampsia durante su embarazo? (Presión arterial elevada, hinchazón, proteínas en orina y convulsiones)
- 2.9.1. Si
- 2.9.2. No
- 2.10. ¿Presentó usted azúcar elevada (>95mg/dL en ayunas) en el embarazo, es decir diabetes gestacional?
- 2.10.1. Si
- 2.10.2. No

3. DATOS DEL EMBARAZO (las siguientes preguntas favor responder sin tomar en cuenta embarazos o partos posteriores a la muestra de cordón umbilical perteneciente a este cuestionario)

- 3.1. Cantidad de peso ganado en el embarazo: _____ lbs.
- 3.2. ¿Cuántas veces se ha embarazado? (tome en cuenta abortos previos al embarazo) _____.
- 3.3. ¿Cuántas veces ha dado a luz? Incluyendo partos y cesáreas. _____.
- 3.4. ¿Cuántos abortos previos al embarazo tuvo usted? _____.
- 3.5. Tipo de parto
- 3.5.1. Cesárea
- 3.5.2. Parto Vaginal
- 3.6. ¿Presentó su bebé la condición llamada sufrimiento fetal agudo durante la labor de parto, es decir presento alteraciones en la frecuencia fetal?
- 3.6.1. Si
- 3.6.2. No
- 3.6.3. No se
- 3.7. Presento su bebé el momento de nacer meconio en el líquido amniótico, es decir su bebe salió con defecación en el agua de fuente?
- 3.7.1. Si
- 3.7.2. No
- 3.7.3. No se

4. DATOS SOBRE EL BEBÉ

4.1.Sexo: _____.

4.2.Grupo Sanguíneo: _____.

4.3.Edad, en semanas, al nacimiento: _____ semanas.

4.4.Peso al nacimiento: _____ lbs.

4.5.Talla al nacimiento: _____ cm.

*APGAR es un examen físico que se realiza al recién nacido al minuto de nacido valorando 5 parámetros importantes.

Aprueba que la información proporcionada anteriormente sea utilizada únicamente para el estudio Factores maternos, obstétricos, neonatales y geográficos que influyen en la cantidad de células totales nucleadas y células madres de baja densidad/CD34+ recolectadas en sangre de cordón umbilical.

Sí, apruebo

No, apruebo

Al terminar este cuestionario favor guardarlo y reenviarlo.

AGRADECEMOS SU COLABORACIÓN

ANEXO 2

Tabla 1. Características de las muestras de cordón umbilical y los factores maternos/neonatales (completa)							
		# (%)	Media	s.d.(+/-)	Mediana	Mínimo	Máximo
CNT (x10⁸)		129	5,17	2,434	4,80	0,40	16,00
CD34+ (x10⁶)		129	16,27	8,888	15,18	1,32	43,56
Peso (g)		129	107,82	25,586	109,00	43	183
Región							
	Costa	41 (32)					
	Sierra	87 (68)					
Edad materna		129	30,98	4,690	30,00	17	42
Sangre Madre							
	A+	33 (25,6)					
	A-	2 (1,6)					
	B+	13 (10,1)					
	AB+	5 (3,9)					
	O+	73 (56,6)					
	O-	3 (2,3)					
Fumó madre							
	Si	128 (99,2)					
	No	1 (0,8)					
Fumó Padre							
	Si	123 (95,3)					
	No	6 (4,7)					
Uso de alcohol							
	Si	5 (3,9)					
	No	124 (96,1)					
Anemia							
	No	112 (86,8)					
	Si	17 (13,2)					
HTAG							
	No	125 (96,9)					
	Si	4 (3,1)					
PE							
	No	125 (96,9)					
	Si	4 (3,1)					
Eclampsia							
	No	128 (99,2)					
	Si	1 (0,8)					
DG							
	No	127 (98,4)					
	Si	2 (1,6)					
# emb. prev.							
	0	47 (36,4)					
	1	45 (34,9)					
	2	25 (19,4)					
	≥ 3	12 (9,4)					
# de Abortos							
	0	93 (72,1)					
	1	28 (21,7)					
	≥ 2	8 (6,2)					
Peso ganado		129	26,74	10,982	25,00	-6	70
SFA							
	No	121 (93,8)					
	Si	8 (6,8)					
Meconio							
	No	123 (95,3)					
	Si	5 (3,9)					
Sangre Bebe							
	A+	42 (32,6)					
	A-	3 (2,3)					
	B+	13 (10,1)					
	AB+	4 (3,1)					
	O+	65 (50,4)					
	O-	2 (1,6)					
Sexo del bebé							
	Masculino	70 (54,3)					
	Femenino	59 (45,7)					
Edad (semanas)		129	38,40	1,406	38,00	33	41
Peso al nacer (g)		129	3188,02	516,171	3182,00	1470	4900
Talla al nacer (cm)		129	49,04	3,022	49,00	36	57

s.d.: desviación estándar; CNT: células nucleadas totales; HTAG: hipertensión gestacional; PE: preeclampsia; DG: diabetes gestacional; SFA: sufrimiento fetal agudo.

ANEXO 3

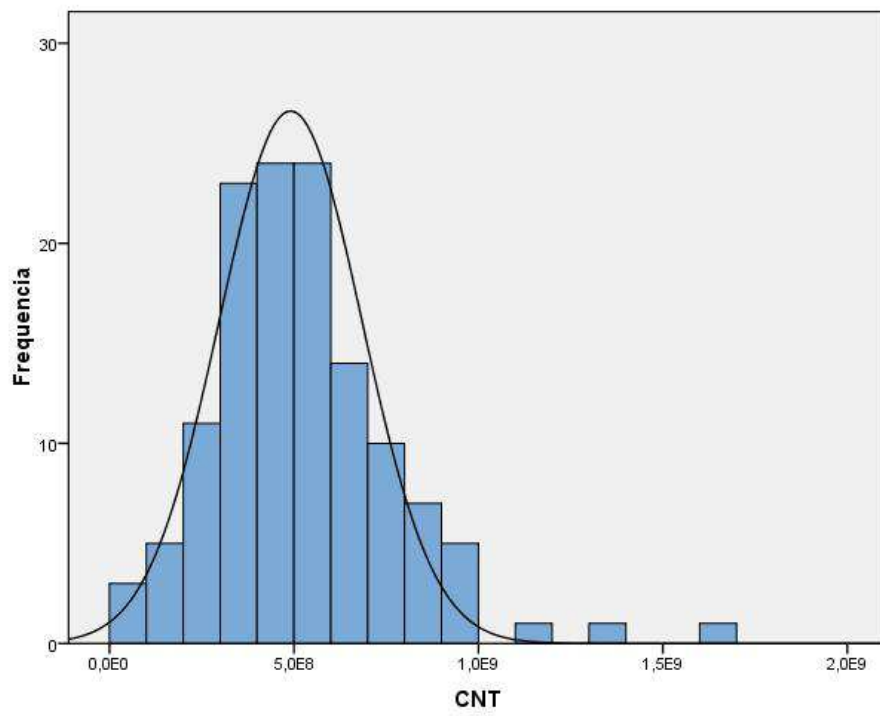


Gráfico 1a. Distribución de células nucleadas totales

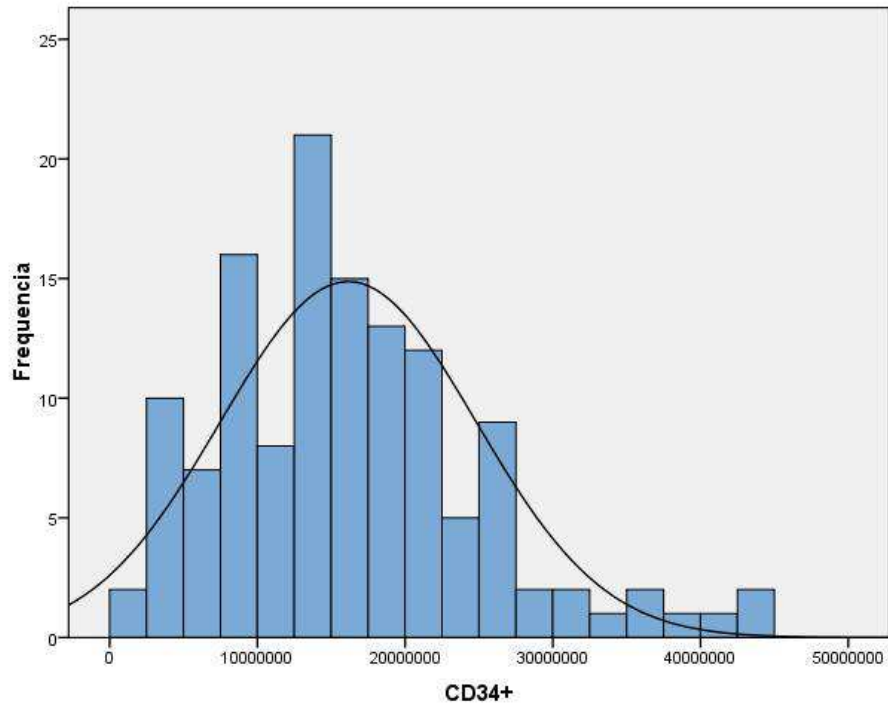


Gráfico 1b. Distribución de células madre de baja densidad/CD34+

ANEXO 4

Tabla 2. Relación entre Región, CNT y CD34+			
Región		CNT	CD34+
Sierra	Media	$5,28 \times 10^8$	$16,35 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,33 \times 10^8$	$8,99 \times 10^6$
	N	87	87
Costa	Media	$4,99 \times 10^8$	$16,18 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,675 \times 10^8$	$8,87 \times 10^6$
	N	41	41
Valor p		0,538	0,917

CNT: células nucleadas totales

Tabla 3. Relación entre tipo de parto, CNT y CD34+			
Tipo de Parto		CNT	CD34+
Parto Normal	Media	$5,87 \times 10^8$	$17,56 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,09 \times 10^8$	$8,48 \times 10^6$
	N	26	26
Cesárea	Media	$5,00 \times 10^8$	$15,94 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,49 \times 10^8$	$8,99 \times 10^6$
	N	103	103
Valor p		0,056	0,369

CNT: células nucleadas totales

Tabla 8. Relación entre el sexo del bebé, CNT y CD34+			
Sexo		CNT	CD34+
Masculino	Media	$4,85 \times 10^8$	$15,87 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,37 \times 10^8$	$8,65 \times 10^6$
	N	70	70
Femenino	Media	$5,56 \times 10^8$	$16,72 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,46 \times 10^8$	$9,21 \times 10^6$
	N	59	59
Valor p		0,140	0,762

CNT: células nucleadas totales

ANEXO 5

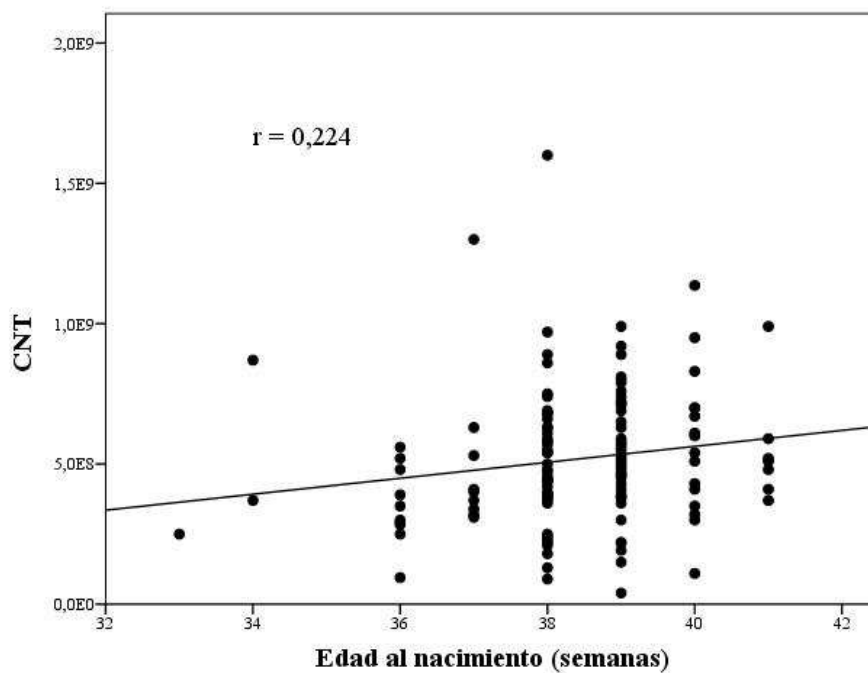


Gráfico 4a. Correlación entre la edad al nacimiento y la cantidad de células nucleadas totales (CNT).

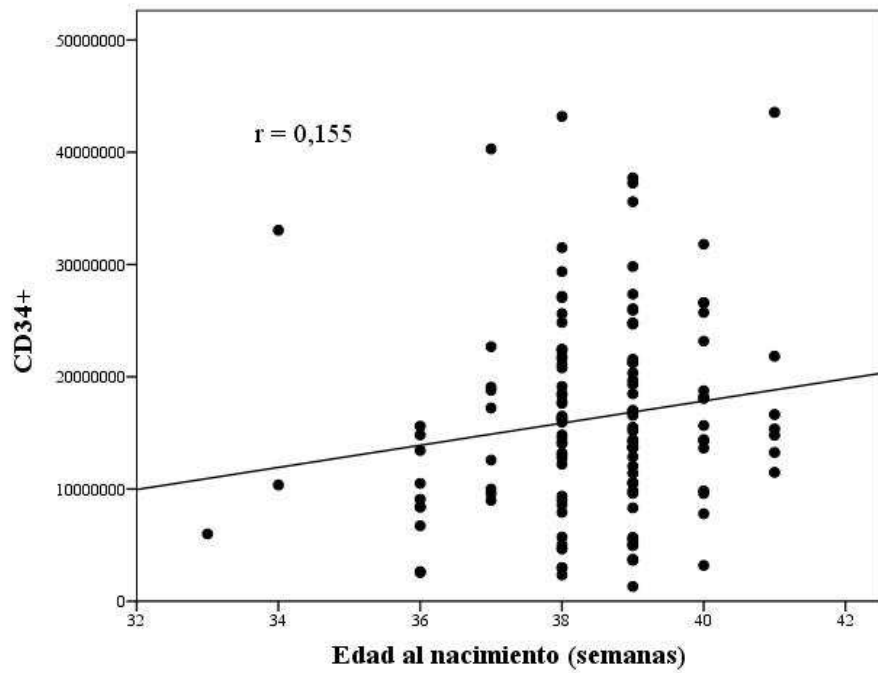


Gráfico 4b. Correlación entre la edad al nacimiento y la cantidad de células madre CD34+.

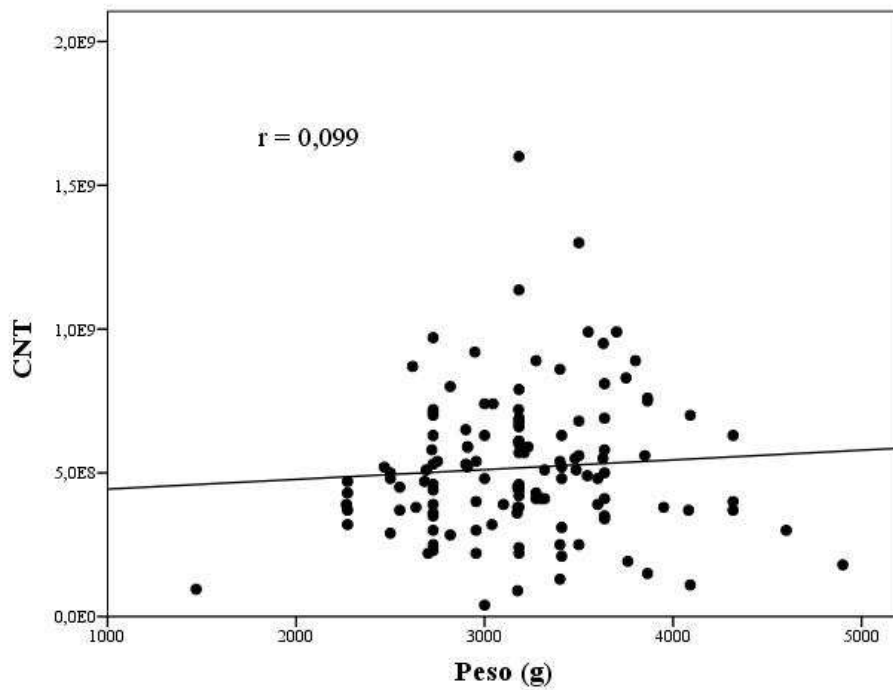


Gráfico 5a. Correlación entre el peso al nacimiento (g) y la cantidad de células nucleadas totales (CNT).

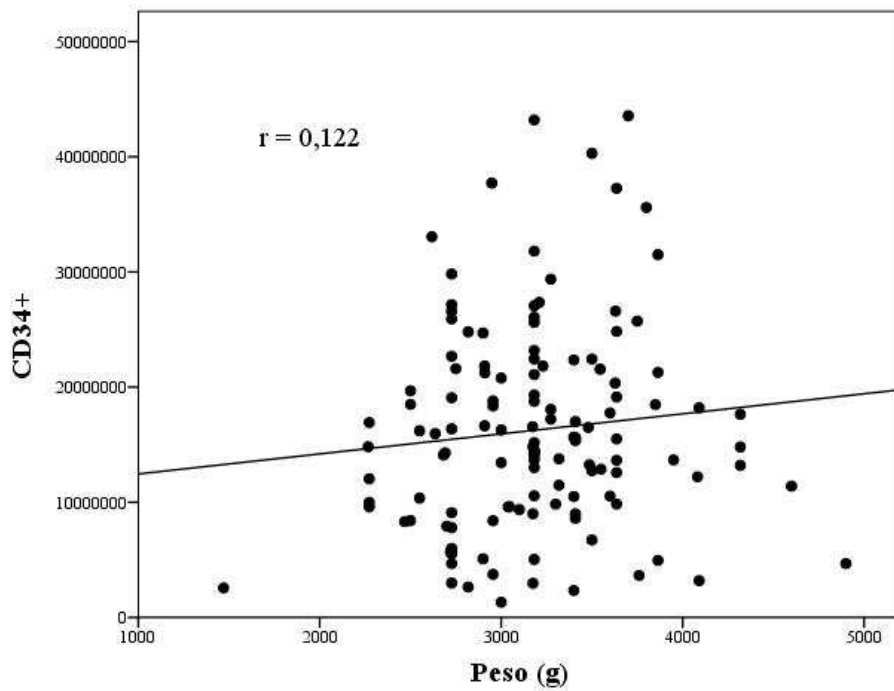


Gráfico 5b. Correlación entre el peso al nacimiento (g) y la cantidad de células madre CD34+.

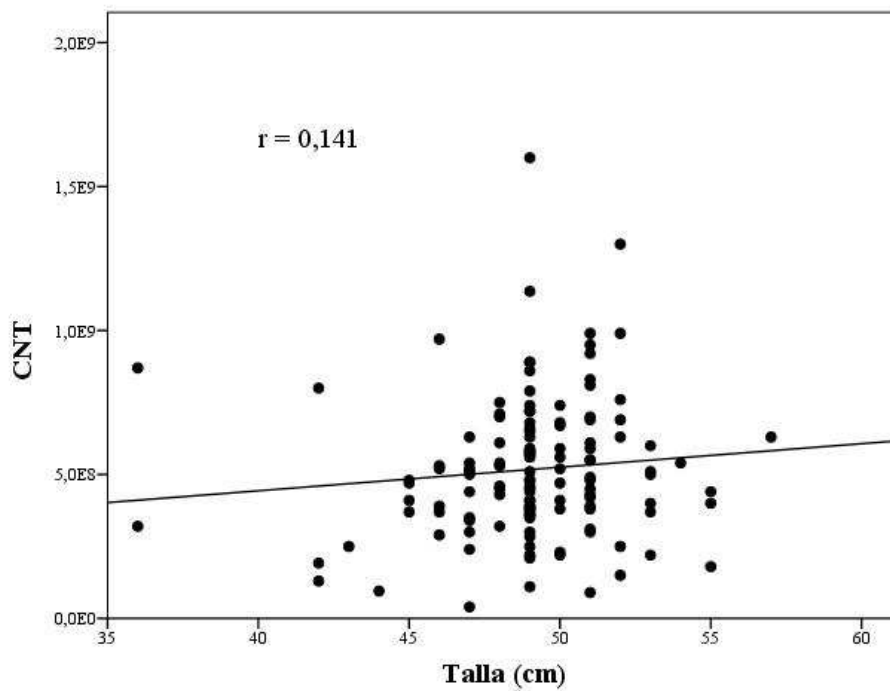


Gráfico 6a. Correlación entre la talla al nacimiento (cm) y la cantidad de células nucleadas totales (CNT).

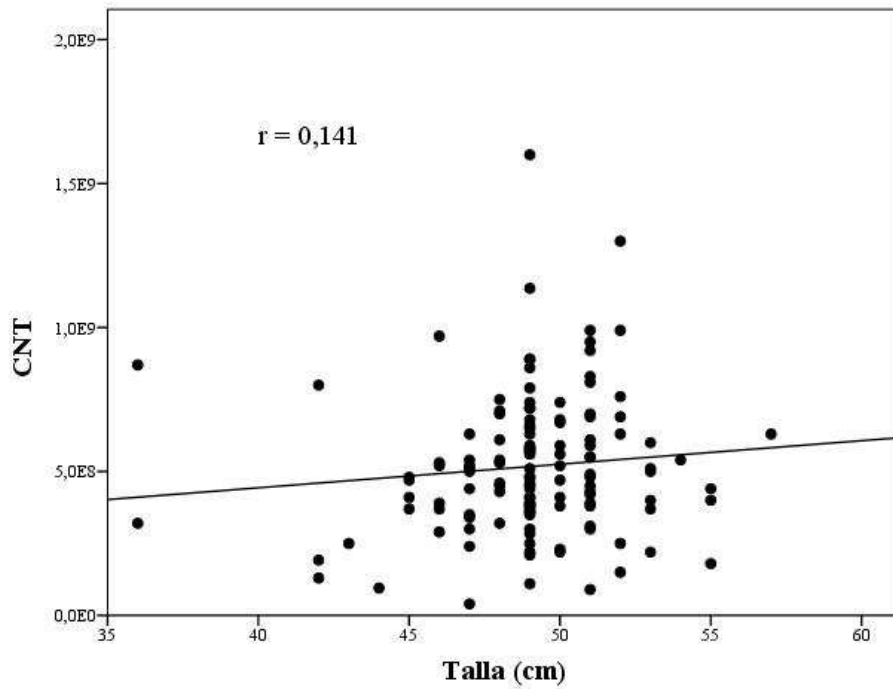


Gráfico 6b. Correlación entre la talla al nacimiento (cm) y la cantidad de células madre CD34+.

Tabla 9. Relación entre el peso del bebé al nacimiento, CNT y CD34+			
Peso		CNT	CD34+
Muy Bajo Peso 1001g – 1500g	Media	$0,95 \times 10^8$	$2,57 \times 10^6$
	Desviación std.	-	-
	N	1	1
Bajo Peso 1501g – 2500g	Media	$4,19 \times 10^8$	$13,14 \times 10^6$
	Desviación std.	$8,13 \times 10^8$	$9,21 \times 10^6$
	N	9	9
Peso Adecuado 2501g – 3500g	Media	$5,26 \times 10^8$	$16,19 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,47 \times 10^8$	$8,77 \times 10^6$
	N	89	89
Peso Elevado > 3501g	Media	$5,36 \times 10^8$	$17,87 \times 10^6$
	Desviación std.	$2,54 \times 10^8$	$9,88 \times 10^6$
	N	30	30
Valor p		0,177	0,228

CNT: células nucleadas totales