

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, OBSTETRICIA Y
GINECOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN DE LAS UNIDADES DE SANGRE DE
CORDÓN PROCEDENTES DE DONANTES CON
PATOLOGÍA OBSTÉTRICA

MARA LÓPEZ SÁNCHEZ

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2007

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 2 de Març de 2007 davant un tribunal format per:

- D. Lorenzo Abad Martínez
- D. José Ramón de Miguel Sesmero
- D. Alejandro Remohí Giménez
- D. Miguel Ángel Sanz Alonso
- D. Vicente Serra Serra

Va ser dirigida per:

D. Alfredo Perales Marín

D^a. Pilar Solves Alcaina

©Copyright: Servei de Publicacions
Mara López Sánchez

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-6794-0

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Facultat de Medicina i Odontologia
Departament de Pediatria, Obstetrícia i Ginecologia



CARACTERIZACIÓN DE LAS UNIDADES DE SANGRE DE CORDÓN PROCEDENTES DE DONANTES CON PATOLOGÍA OBSTÉTRICA

Tesis doctoral presentada por

Mara López Sánchez

Licenciada en Medicina

Valencia, 2006

DIRECTORES:

Dr Alfredo Perales Marín

Hospital Universitario La Fe. Valencia

Dra Pilar Solves Alcaina

Banco de Sangre de la Comunidad Valenciana

AUTORA:

Mara López Sánchez

Memoria de Tesis Doctoral para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

AGRADECIMIENTOS

No quisiera dejarme a nadie en el tintero puesto que son muchos los que me han acompañado en este viaje. Viaje que comenzó en mi primer año de Residencia pero que tiene sus cimientos en mi trayectoria como persona en la vida, cuya influencia fundamental se la debo a mis padres, por su dedicación tanto a mí como a mi hermano, por su cariño y la educación recibida.

A todos los que directa o indirectamente han contribuido a hacer posible esta tesis doctoral.

Al Hospital Universitario Maternal La Fe, donde me he formado como Médico Interno Residente de Ginecología y Obstetricia, a todos mis compañeros, jefes, adjuntos y residentes, especialmente a mi guardia, con los que he compartido tantas horas de trabajo y tan buenos momentos.

Al Dr Javier Monleón que me apoyó en mis inicios cuando llamé a su puerta porque quería realizar la tesis doctoral y siempre fui bien recibida y me instó a esforzarme.

Principalmente, a mis directores de tesis, el Dr Alfredo Perales y la Dra Pilar Solves, que son el alma de este proyecto, por haberme guiado y haberme tendido una mano siempre con una sonrisa. A su capacidad de trabajo, a las horas dedicadas a este proyecto, a su entusiasmo.

A mi marido Juanma por apoyarme incondicionalmente en todas las facetas de mi vida y sin cuya entrega probablemente este proyecto no hubiera llegado a buen puerto.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	11
1. Células madre hematopoyéticas del adulto.....	11
2. Células madre de la sangre de cordón umbilical.....	13
3. Hematopoyesis.....	14
3.1. Factores hematopoyéticos de crecimiento	
3.2. Regulación de la hematopoyesis	
3.3. Muerte celular programada	
4. Técnicas de extracción y fuentes de progenitores hematopoyéticos	18
4.1. Trasplante de médula ósea	
4.2. Trasplante de precursores hematopoyéticos de sangre periférica	
4.3. Sangre de cordón umbilical (SCU).	
5. Cómo surge la creación de los Bancos de Sangre de Cordón Umbilical	22
5.1. Indicaciones de búsqueda de progenitores hematopoyéticos procedentes de la médula ósea y/o SCU	
5.2. Mecanismos de solicitud de las búsquedas de progenitores hematopoyéticos	
• Requisitos generales para iniciar una búsqueda	
• Tramitación de las búsquedas	
• Transporte de la médula ósea o de la unidad de sangre de cordón	
5.3. Transporte de las unidades de SCU	
5.4. Mecanismo de interconexión de los diferentes bancos de cordón	
6. Situación legal en España de los trasplantes de cordón	32
6.1. Donación de la SCU	
6.2. Centros de obtención	
6.3. Entrada de médula ósea y unidades de sangre de cordón (USC) a España	
6.4. Salida de médula ósea y USC de España	
6.5. Trasplante de médula ósea y USC	
7. Aspectos éticos de los trasplantes de cordón	36
7.1. Consentimiento informado	
7.2. Propiedad de la SCU	
7.3. Resultados de los análisis	

7.4. Privacidad y confidencialidad	
7.5. Garantía de calidad de los bancos de SCU	
7.6. Actuación justa	
II. JUSTIFICACIÓN	41
1. Introducción	41
2. Revisión bibliográfica y estado actual de los trasplantes de cordón	42
2.1. Características de las células progenitoras hematopoyéticas de SCU	
2.2. Ventajas y problemas de las células progenitoras hematopoyéticas de SCU respecto a otras fuentes	
2.3. Resultados clínicos de los trasplantes de SCU	
3. Factores obstétricos que afectan a la calidad de la SCU	47
III. OBJETIVOS	51
IV. TIPO DE DISEÑO	53
V. LUGAR DE EJECUCIÓN	55
VI. MATERIAL	57
1. Impresos para la donación de SCU	57
2. Material necesario para la obtención de SCU	57
3. Material para el procesamiento y caracterización de la SCU	57
4. Caracterización de la muestra	58
4.1. Datos maternos	58
4.2. Datos relacionados con el parto	59
4.3. Datos neonatales	60
4.4. Datos relacionados con el bienestar fetal	60
4.5. Datos sobre el tipo de recolección	61
4.6. Datos hematológicos	61
5. Estadística descriptiva en tablas	62
5.1. Variables cuantitativas	62
5.2. Variables cualitativas	63

VII. MÉTODO	67
1. Recogida de las donaciones de SCU	67
1.1. Selección de las donantes	67
1.1.1. Donantes rutinarias	
1.1.2. Donaciones procedentes de patología	
1.2. Recogida de la SCU	69
1.2.1. Recogida intraútero	
1.2.2. Recogida exútero	
1.2.3. Muestras de sangre materna	
1.2.4. Conservación de las unidades de SCU hasta el procesamiento	
1.3. Procesamiento de las unidades de SCU	71
1.3.1. Identificación	
1.3.2. Fraccionamiento de la SCU	
1.3.2.1. Reducción de volumen mediante sedimentación con hidroxetil almidón	
1.3.2.2. Reducción de volumen mediante sistema arriba y abajo con Optipress II	
1.3.3. Criopreservación de la SCU	
1.3.4. Almacenamiento de la SCU	
1.4. Controles biológicos	74
1.4.1. Recuento y viabilidad celular	
1.4.2. Determinación de las células CD34+ por citometría de flujo	
1.4.3. Cultivos de progenitores hematopoyéticos	
1.4.4. Tipaje HLA clase I y II	
1.4.5. Control de esterilidad	
2. Análisis estadístico	75
2.1. Estadística descriptiva	76
2.2. Estadística analítica	76
3. Seguimiento y control postparto de la madre y del recién nacido	79
4. Criterio de validación de las unidades de SCU	79
VIII. RESULTADOS	81
1. Volumen en ml de la muestra recogida	84
2. CNT preprocesamiento x 10 ⁸	91

3. CNT post procesamiento x 10 ⁸	98
4. CD34 post procesamiento x 10 ⁸	104
5. Células CD 34 en porcentaje.....	110
6. Viabilidad.....	116
7. Unidades formadoras de colonias eritroides	121
8. Unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas	127
9. Unidades formadoras de colonias mixtas.....	133
10. Número de colonias	139
IX. DISCUSIÓN	155
X. CONCLUSIONES	169
XI. BIBLIOGRAFÍA	171
XII. ABREVIATURAS	181
XIII. ANEXOS.....	183
1. Hoja de información sobre la donación de sangre de cordón umbilical	184
2. Consentimiento informado para la donación voluntaria de sangre de cordón umbilical	187
3. Indicaciones de búsqueda de progenitores hematopoyéticos procedentes de médula ósea y/o de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado	189
4. Cuestionario de autoexclusión para evaluación de donantes	192
5. Datos del parto y valoración pediátrica	194
6. Recogida de la sangre de cordón umbilical	196
7. Valoración pediátrica a los 40 días	197
8. Enfermedades en que ya se ha utilizado el trasplante de células madre de SCU	199

I. INTRODUCCIÓN

1. CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS DEL ADULTO

Las células madre de la sangre humana se han usado desde hace más de 40 años con fines terapéuticos. El trasplante realizado con células madre de médula ósea del propio paciente, o de médula ósea, sangre periférica, o cordón umbilical, de un donador sano y compatible inmunológicamente con el paciente, se ha utilizado en enfermedades inmunológicas, fallos de la médula ósea y diversas enfermedades hematológicas, incluidas las talasemias. Hacia los años 50, dos grupos de investigadores¹⁻² indicaron la posibilidad de inyectar por vía intravenosa las células de la médula ósea para restaurar las células sanguíneas destruidas en animales letalmente irradiados. Más tarde, otros investigadores³ señalaron que era posible tal reconstrucción con las células troncales hematopoyéticas; cada colonia deriva de un único precursor clonogénico que da origen a todos los linajes hematopoyéticos y tiene además capacidad de autorenovación. Inicialmente, las células madre hematopoyéticas se caracterizaron por la expresión de algunos de los antígenos marcadores de membrana, como el CD34. Recientemente se ha descrito un nuevo tipo de células troncales, similares a fibroblastos primarios, y carentes de CD34, presentes en la médula ósea, la sangre periférica y la del cordón umbilical, y que constituyen el componente predominante de la población en reposo de las células madre hematopoyéticas y del mesénquima⁴.

Las células madre de la médula ósea son capaces de diferenciarse a células específicas de órganos y tejidos, por efecto de factores, especialmente del SCF (factor estimulante de colonias). La adición de este factor en combinación con interleuquina 1 (IL-1), IL-3 o IL-6 hace que una fracción significativa de las células madre proliferen a los linajes mieloides o eritroides; y la adición de G-CSF (factor estimulante de granulocitos), GM-CSF (de granulocitos-macrófagos) o M-CSF (de macrófagos) las dirige hacia precursores mieloides⁵. Una de las combinaciones más efectivas fue el tratamiento in vitro de células CD34+ con seis factores de crecimiento (IL-1, IL-3, IL-6, G-CSF, GM-CSF y SCF)⁶. Las células del estroma son la mayor fuente

de factores de crecimiento y también interaccionan con las células madre a nivel intercelular⁷. Durante años se supuso que las células estromales eran CD34-, mientras que las troncales expresaban, al menos en bajas cantidades, el antígeno CD34; pero recientemente, varios grupos han mostrado de forma independiente que es posible la reconstrucción hematopoyética con células madre CD34- derivadas de la médula ósea⁸⁻⁹. Tradicionalmente el trasplante de células troncales (CD34+) se realizó por infusión de una mezcla de las diferentes células de la médula ósea¹⁰⁻¹¹

Un avance fue seleccionar y eliminar, mediante anticuerpos monoclonales, células no deseadas, como los linfocitos B para trasplantes autólogos a pacientes con linfomas non-Hodgkin o mieloma múltiple¹². Otra fuente de células troncales es la sangre periférica y la del cordón umbilical desde donde pueden obtenerse mediante aféresis¹³, creciéndolas in vitro antes de reinyectarlas al paciente sometido a radio o quimioterapias intensivas¹⁴. Este tipo de células también se desarrollan en el hígado fetal y por ello se pueden tratar niños con inmunodeficiencias congénitas¹⁵ suministrándoles estas células. La diferenciación de un célula madre pluripotente a una línea celular madura de la sangre responde a una variedad de factores de crecimiento¹⁶ y la expansión de progenitores hematopoyéticos se usa también para suplementar los trasplantes autólogos¹⁷. La médula ósea no sólo retiene a lo largo de la vida la capacidad de regenerar las células troncales progenitoras sino que da lugar a las células de la sangre, de hueso y de cartílago. Los primeros experimentos de diferenciación de células troncales de la médula ósea se realizaron, cuando el equipo de Eglitis, y el de Kopen, consiguieron obtener células nerviosas. También se han obtenido, a partir células de la médula ósea, células musculares, hepáticas, y de endotelio vascular. Los neurocientíficos continúan buscando alternativas a las neuronas¹⁸ procedentes de células madre embrionarias o inmaduras fetales como fuente alternativa para la regeneración de zonas dañadas del cerebro. Las células madre de la médula ósea son realmente accesibles y pueden obtenerse del propio enfermo, sin problema de rechazo.

2. CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS DE LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Una de las fuentes más prometedoras de células pluripotenciales es la sangre del cordón umbilical que puede extraerse en el momento del nacimiento sin afectar al neonato ni a la madre; 4 millones de células precursoras pueden obtenerse a partir de 200 ml de sangre del cordón que pueden usarse, incluso tras largo tiempo de crioconservación, en trasplantes¹⁹⁻²⁰, y posiblemente en terapia génica. Estas células ya se han aislado y purificado. La sangre del cordón presenta menos problemas de compatibilidad ya que las células madre presentes en ella difieren de las de la medula ósea y son más tolerantes²¹. No sólo generan hematíes normales y leucocitos (por lo que se pueden usar para ayudar a renovar los hematíes en personas con anemia falciforme y para restablecer el sistema inmunitario de niños nacidos con una inmunodeficiencia grave), sino también otras células cerebrales de sostén como la microglía, por lo que se usan para aportar enzimas que estén alterados hereditariamente en enfermedades, como el síndrome de Hurler, en el que tal alteración enzimática conduce a una degeneración neurológica. Ante las ventajas evidentes de los trasplantes de sangre del cordón umbilical numerosos hospitales e institutos clínicos han establecido bancos donde la madre pueda depositar la sangre del cordón umbilical del hijo. En 1989 el grupo de investigadores de Hal E. Broxmeyer demostraron que esta sangre tenía tantas células madre como la medula ósea; ese mismo año el primero de ellos con Eliane Gluckman informaron de la curación obtenida de un niño con anemia de Fanconi aprovechando sangre del cordón de una hermana²⁰. Desde entonces se ha usado la sangre depositada en los bancos para tratar a personas no emparentadas. Recientemente se ha descrito que estas células pueden reparar lesiones cerebrales²².

3. HEMATOPOYESIS

La hematopoyesis consiste en la formación y desarrollo de células sanguíneas a partir de la **célula madre pluripotencial** (*stem cell*).

Durante las primeras semanas embrionarias se encuentran células madres en el **saco vitelino**, las cuales van diferenciándose en células eritroides, provistas de hemoglobina embrionaria²³.

Desde el tercer mes hasta el séptimo de embarazo, las células madre migran, primero al **hígado fetal**, y después al **bazo fetal**, donde sigue la hematopoyesis.

Desde el séptimo mes, va disminuyendo la hematopoyesis en el hígado y bazo, hasta que desaparece para la época del nacimiento, y va adquiriendo preeminencia el papel de la **médula ósea**.

Todas las células sanguíneas proceden de la citada célula madre pluripotencial. En la médula ósea sólo hay una de tales células por cada 10.000 totales. Son células capaces de autorregeneración, de modo que durante la vida adulta se mantienen homeostáticamente. En circunstancias de alta demanda de células sanguíneas aumenta la capacidad proliferativa de la célula madre. Ejemplo: Un ratón irradiado con rayos X (950 rad) moriría al cabo de unos 10 días; pero si le infundimos sólo diez mil o cien mil células de médula ósea de un ratón singénico, se reconstituye todo su sistema hematopoyético²⁴.

Como se puede ver, tanto en el linaje linfoide como en el mieloide, los progenitores quedan "comprometidos" o determinados a seguir una determinada ruta de diferenciación; ello se debe a que adquieren la capacidad de responder a determinados factores de crecimiento. En la médula ósea adulta, las células de la línea hematopoyética van madurando y diferenciándose en el interior de un **estroma** compuesto por células no hematopoyéticas (células grasas, endoteliales, fibroblastos, etc.). La maduración se debe al microambiente suministrado por la matriz celular del estroma junto con factores difusibles o no difusibles. Entre los difusibles se encuentran diversos **factores de crecimiento**.

Las células ya diferenciadas adquieren deformabilidad de membranas, lo cual les permite pasar a través de la pared sinusoidal, a los **senos de la medula ósea**, desde donde acceden a la circulación general.

3.1 FACTORES HEMATOPOYÉTICOS DE CRECIMIENTO

Las células hematopoyéticas requieren factores de crecimiento, se requieren para la supervivencia, multiplicación, diferenciación y maduración.

Hay varios tipos de factores:

1. Factores estimuladores de formación de colonias (CSF), pertenecientes a la familia de las glucoproteínas ácidas. Ejemplos: multi-CSF (también llamado IL3, es un factor multilínea; GM-CSF (estimulador de la línea granulocito-macrófago); M-CSF (de la línea que conduce al monocito-macrófago); G-CSF (de la línea que desemboca en los granulocitos).
2. Eritropoyetina (EPO), que se produce en el riñón, y que estimula la línea que, vía progenitor eritroide conduce a los eritrocitos.
3. Otros factores: principalmente las interleuquinas IL-4 a IL-9, segregadas por células estromales, macrófagos activados, etc.

3.2 REGULACIÓN DE LA HEMATOPOYESIS

La hematopoyesis se mantiene durante toda la vida del individuo, de modo que el número de células nuevas equilibra al de células que se pierden o mueren.

Cada tipo celular tiene una vida media más o menos característica:

1. Los eritrocitos viven unos 120 días, al cabo de los cuales son fagocitados por los macrófagos del bazo.
2. Los neutrófilos duran unos pocos días.
3. Algunos linfocitos T duran más de 30 años.

El cuerpo humano produce unos 400 000 millones de células de la línea hematopoyética cada día.

La hematopoyesis está regulada de forma muy fina, de modo que cada tipo celular tiene un control diferente, pero además, esta regulación es lo suficientemente flexible para permitir incrementos de 10 o 20 veces ante una infección o una hemorragia.

La **regulación de fase estacionaria** (en ausencia de infección o de hemorragia) se logra por la producción controlada de citoquinas por parte de las células estromales de la médula ósea.

Ante una infección o hemorragia se produce una **hematopoyesis inducible** (incrementada), por la acción de citoquinas segregadas por macrófagos y linfocitos T_H: se incrementa la cantidad de células específicas de la médula ósea, que al madurar tenderán a migrar al foco de infección o lesión

3.3 MUERTE CELULAR PROGRAMADA

Como ya dijimos, en cada linaje hematopoyético existe un equilibrio entre la producción de células nuevas y la destrucción de células adultas. Esta destrucción ocurre por la llamada muerte celular programada o **apoptosis**:

1. La célula disminuye de tamaño (se encoge);
2. Se modifica su citoesqueleto, lo cual se refleja en que la membrana celular se arruga;
3. La cromatina se condensa en varias zonas del núcleo (fenómeno de **picnosis**);
4. El ADN se fragmenta en múltiplos de unos 200 pb, el equivalente al que existe en cada nucleosoma, debido a la acción de nucleasas, que cortan por la región internucleosómica (ello se ve bien por el patrón "en escalera" del ADN sometido a electroforesis en gel de agarosa);
5. Los núcleos se fragmentan.
6. Al final, la célula se descompone en varios trozos, los llamados **cuerpos apoptóticos**, que rodeados de membrana, pueden contener orgánulos intactos.

7. Los fagocitos profesionales (macrófagos y leucocitos polimorfonucleares) finalmente fagocitan y degradan los cuerpos apoptóticos: de esta forma se logra que el contenido de las células viejas no se libere al exterior, con lo que se evita la respuesta inflamatoria.

Este mecanismo de muerte celular programada se opone al fenómeno de la necrosis (por ejemplo, la que se genera por algún daño tisular). En la necrosis las células se hinchan y terminan estallando, liberando sus contenidos al exterior, lo cual produce efectos citotóxicos en otras células, desarrollándose una inflamación junto con destrucción de tejido.

¿Qué hace que una célula moribunda o un cuerpo apoptótico sea reconocido por los fagocitos para su ingestión y destrucción intracelular? Al parecer, existe una serie de cambios en su superficie que permiten ese reconocimiento:

1. La célula pierde ácido siálico, de modo que quedan expuestos los azúcares de la membrana, los cuales son reconocidos por lectinas de los fagocitos.
2. Los fagocitos liberan la trombospondina, que sirve de puente entre el fagocito y la célula moribunda (tiene un sitio de unión que reconoce un receptor de la célula apoptótica, y otro sitio que se engarza con integrinas del fagocito).
3. Se exponen al exterior cadenas de fosfatidil-serina de la célula a eliminar, que son reconocidos por un receptor de los fagocitos.

La apoptosis posee un claro **sentido evolutivo y adaptativo**:

1. Evita daños inflamatorios de la necrosis.
2. El suicidio ("altruismo citológico") de las células es beneficioso para el individuo. Esto es especialmente cierto para los linfocitos, que tienen *per se* una gran capacidad

proliferativa, y que están casi en el límite de su "potencial cancerígeno".

Al menos en algunos casos, la apoptosis es una muerte celular **programada genéticamente**, que forma parte del repertorio de respuestas adaptativas de la célula ante ciertos estímulos o ante la ausencia de otros. Existen dos clases principales de genes implicados:

- *myc*, *p53*: inductores de la apoptosis en ausencia de ciertas señales de supervivencia;
- *bcl2* y otros: inhibidores de apoptosis en presencia de ciertas señales de "rescate"

4. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y FUENTES DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS

4.1. TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

La técnica de TMO es simple y quedó establecida con pocas modificaciones a partir de la descripción inicial de Thomas y Storb en 1970 (Fred Hutchinson Cancer Research Center de Seattle)²⁵. Consiste en obtener medula ósea del donante mediante repetidas punciones aspirativas a nivel de crestas ilíacas anteriores y posteriores. El producto de cada aspiración se recoge en un recipiente que contiene un medio de cultivo (con el fin de mantener la máxima viabilidad celular) y heparina (para evitar la coagulación de la medula), y se pasa a través de filtros metálicos (para convertir los grumos medulares en suspensiones mononucleares y eliminar las partículas óseas del aspirado). La intervención se realiza en el quirófano bajo condiciones estériles y anestesia general.

El mínimo número de células nucleadas a obtener es de $3 \times 10^8/\text{kg}$ del receptor ($3-4.5 \times 10^8/\text{kg}$). Esta cifra suele corresponder a un volumen de 15-20ml/kg del receptor. Finalmente, la medula obtenida se trasvasa, en condiciones asépticas, a bolsas de transfusión convencionales y se infunde por vía intravenosa al paciente mediante un filtro estándar de transfusión.

El donante puede necesitar una transfusión de sangre para reemplazar los hematíes y el plasma perdidos durante la extracción de medula ósea. Por tal motivo, es recomendable que done su propia sangre varios días antes de la extracción de la medula con el fin de reinfundírsela durante la intervención.

4.2. TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE PERIFÉRICA

En terminología inglesa, la célula germinal hematopoyética se conoce como «stem Cell». La palabra «stem», que significa tronco, se utiliza para denominar a las células hematopoyéticas capaces de dividirse asimétricamente y dar lugar a dos células hijas diferentes, una idéntica a su progenitora, capaz de automantener su propio compartimento y otra diferente a la anterior, capaz de diferenciarse en distintas direcciones (eritroide, granulomonocitaria, plaquetaria y linfoide) para dar lugar a las células maduras de la sangre. Todas las células stem tienen capacidad de anidar y proliferar en la MO y en determinadas condiciones «in vitro» en medios de cultivo.

En 1975 Barr y Whang-Peng pusieron de manifiesto la presencia de precursores hematopoyéticos en la sangre periférica (PHSP) de humanos. En 1977, Nothurft y colaboradores, trabajando en perros consiguieron regenerar la médula de los animales letalmente irradiados mediante la infusión de células mononucleadas de sangre periférica autóloga²⁶⁻²⁷. Alrededor de 1986 empezaron a aparecer los primeros éxitos del autotrasplante de PHSP en neoplasias sobre todo del sistema linfoide. El conocimiento de que las poblaciones celulares expresan antígenos específicos de cada nivel de diferenciación, ha permitido su identificación y cuantificación por citometría de flujo. En el momento actual se admite que la célula stem pluripotencial expresa

en su superficie el antígeno CD34+, con baja expresión de otros antígenos. En la sangre periférica, en condiciones basales, los progenitores hematopoyéticos CD34+ representan el 0,01-0,1% del total de células.

La recolección de las células progenitoras de sangre periférica se realiza en régimen ambulatorio, por leucoaféresis, utilizando separadores celulares de flujo continuo, mediante una selección positiva de las células CD34+ utilizando anticuerpos monoclonales contra los antígenos CD34. Previamente, al donante se le ha administrado factores de crecimiento hematopoyético (GCSF a dosis de 10mgr/kg/día s.c. durante 4 días, realizándose la leucoaféresis el 5º día, con la finalidad de incrementar el número de células progenitoras en la sangre periférica y poderlas recolectar con el menor número posible de leucoaféresis. Para garantizar el éxito de un implante no está claramente definida la cifra mínima de células CD34+ a extraer, recomendándose 5×10^6 /kg de receptor (mínimo 2×10^6 /kg), dependiendo de la enfermedad de base. Por regla general se precisan de 1 a 2 aféresis para obtener el número de células necesarias para un trasplante.

A las ventajas logísticas de este procedimiento sobre el anteriormente descrito en relación al donante (mínimos riesgos para el donante, ambulatorio, sin anestesia), se añade la posibilidad de obtener grandes cantidades de precursores hematopoyéticos y el hecho constatado del acortamiento del periodo de aplasia (neutropenia, trombocitopenia y anemia) que sigue al trasplante, y de la recuperación inmune (probablemente debido a la presencia en el inóculo de grandes cantidades de linfocitos inmunocompetentes). Todo ello reduce de manera significativa las complicaciones peritransplante y el tiempo de hospitalización, con la ventaja añadida de una importante reducción de costes. Ello ha hecho que un procedimiento que nació como una alternativa al TMO autólogo en pacientes con MO inadecuada, se esté convirtiendo en el de elección en muchos casos, tanto para TMO autólogos como para el trasplante alogénico.

La principal preocupación en este tipo de trasplante se centró en el posible aumento de la incidencia de la EICH dado el mayor número de células

T infundidas en cada trasplante, lo que se ha subsanado actualmente con la posibilidad de deplecionar de las células T el producto recogido, mediante una selección positiva usando anticuerpos monoclonales, consiguiendo una reducción importante en la incidencia de esta complicación. Por el momento no se ha evidenciado un aumento de la incidencia ni severidad de la EICH aguda, pero los datos respecto a la incidencia de EICH crónica son más controvertidos.

4.3. SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

En 1983 Boyse, señaló por primera vez la posibilidad de utilizar la sangre de la placenta como fuente de progenitores hematopoyéticos. La primera experiencia clínica fue realizada en 1988 por Gluckman en un niño afecto de anemia de Fanconi al cual se le infundió sangre del cordón umbilical de su hermano HLA idéntico, permaneciendo este paciente vivo y libre de enfermedad en el momento actual. Desde entonces la sangre de cordón umbilical se ha consolidado como una fuente de progenitores y es una excelente alternativa a la médula ósea para el trasplante de donantes no emparentados en niños²⁸⁻³⁰.

La recolección de la sangre del cordón umbilical es un procedimiento simple, no invasivo y compatible con la práctica rutinaria obstétrica. Se obtiene mediante la canulación de la vena umbilical después de que el cordón es clampedo y cortado. La sangre se recoge mediante aspiración con una jeringa o por la acción de la gravedad, siendo el volumen de la recolección de 30-150 ml. El producto puede ser criopreservado en las 24 horas siguientes a la recolección, manteniéndose hasta entonces a 4° C. La criopreservación se realiza mediante congelación programada utilizando como conservante DMSO al 10% y almacenamiento posterior en nitrógeno líquido durante tiempo indefinido. Son contraindicaciones para la recogida de sangre de cordón, una edad gestacional inferior a 37 semanas, fiebre materna intraparto, amniorrexis de > 24 horas, sufrimiento fetal agudo, enfermedades congénitas o infecciones transmisibles.

El producto celular de la sangre de cordón umbilical tiene una composición y comportamiento característico que difiere de la MO y PHSP. Tiene un mayor porcentaje de precursores hematopoyéticos inmaduros, mayor capacidad de expansión de las células CD34+ y de formación de CFU-GM; los linfocitos T, B y NK, que se encuentran en proporción similar, se comportan funcionalmente como linfocitos inmaduros siendo la respuesta citotóxica de los linfocitos T prácticamente nula. La recuperación hematológica en relación a los neutrófilos es similar al TMO pero la de las plaquetas aparece claramente retrasada.

Las principales ventajas de utilizar la SCU³¹⁻³³ como una fuente alternativa de CMHs son, la facilidad de su obtención, ausencia de riesgo para el donante, un riesgo reducido de transmisión de infecciones, pronta disponibilidad de muestras criopreservadas, bajo riesgo de transmisión viral y baja incidencia de enfermedad de injerto contra huésped (EICH), debido a la inmadurez del sistema inmune del recién nacido. Comparado con el trasplante de MO no emparentado, donde se requiere un grado de identidad completa HLA para los antígenos de clase I y II, la mayoría de los trasplantes de SCU no emparentados se han realizado con uno, dos y tres grados de disparidad HLA³⁴.

Entre sus desventajas cabe señalar la disponibilidad de una sola unidad para cada trasplante, en ocasiones, insuficiente, así como la posibilidad de transmisión de enfermedades congénitas no detectables por la historia familiar o por los test de laboratorio habituales.

5. CÓMO SURGE LA CREACIÓN DE LOS BANCOS DE SCU

Una vez demostrada la capacidad de implante de los progenitores de la SCU entre familiares histocompatibles, la mayor permisividad inmunológica de las células inmunocompetentes de la SCU y contando, además, con la experiencia previa del desarrollo estratégico de los registros de donantes no emparentados de médula ósea, se propuso la utilización de donaciones no

emparentadas con el objetivo de completar el abanico de posibles donantes alternativos de progenitores hemopoyéticos³⁴. Ello podía mejorar las expectativas (y de hecho así ha sucedido) del 60/70% de pacientes que carecen de un donante familiar idóneo.

Para posibilitar esta estrategia ha sido necesario el desarrollo de programas de donación, obtención, manipulación y almacenamiento de la SCU; en resumen, la creación de los bancos de sangre placentaria o de cordón umbilical (BSCU), a fin de poder suministrar este producto, con la máximas garantías de calidad, a los centros de trasplante³⁵. En este sentido, a pesar de la limitación que le confiere su escaso volumen y contenido de progenitores obtenidos, la SCU tiene una serie de ventajas adicionales sobre la MO procedente de registros de donantes no emparentados:

- a) menor incidencia y mejor control de enfermedades transmisibles,
- b) disponibilidad casi inmediata,
- c) ausencia de pérdidas del registro y
- d) menor coste económico

El banco de sangre de cordón umbilical de Nueva York fue el pionero, iniciando su actividad en 1993, y también fue el primero que suministró una unidad de SCU no emparentada, durante el mismo año, para la realización del primer trasplante de este tipo en la "Duke University" de Durham.

A esta iniciativa se sumaron los BSCU de Milan, Duesseldorf y Barcelona, entre 1994 y 1995, a los que progresivamente se sumaron otros hasta un total de más de 50 en el año 2000. En la actualidad hay más de 70.000 unidades de SCU disponibles, de las cuales aproximadamente la mitad están en BSCU Europeos y se han realizado más de 1500 trasplantes. Generalmente, los BSCU reportan sus unidades a los registros nacionales (en España, el Registro Español de Donantes de Médula Osea "REDMO" patrocinado por la Fundación Internacional José Carreras) e internacionales

(Bone Marrow Donors Word Wide "BMDW", National Marrow Donors Program "NMDP").

En 1998 los BSCU pioneros en Europa (Milan, Duesseldorf, Barcelona) crearon el embrión de una organización internacional, NETCORD, a la que posteriormente se han sumado los bancos de Londres, París, Bélgica, Tokio, Denver, San Luis, Nueva York y Leiden. Esta organización tiene como objetivos garantizar la calidad de los productos transplantables, facilitar la interacción con los centros de trasplante y/o registros, facilitar el análisis de los resultados clínicos y promocionar la investigación sobre este producto hemopoyético.

Los primeros pasos en esta dirección han sido la creación de unos estándares de calidad de alcance internacional, asociados a la Foundation for the Accreditation of Hemopoietic Cell Therapy (FAHCT) y el desarrollo de una estrategia informática de comunicación en forma de "Oficina Virtual" (<http://office.netcord.org>)

Paralelamente, en Europa, gracias a una financiación de la CE se ha desarrollado el proyecto EUROCORD que coordina la investigación clínica en trasplante de SCU.

De los primeros análisis clínicos (grupo EUROCORD, BSCU de Nueva York, Universidad de Minesotta y la Universidad de Duke) se desprenden ya una serie de conclusiones relevantes:

- a) La SCU es capaz de implantar correctamente en la mayoría de los pacientes, aunque la velocidad de este implante es menor que la que se obtiene con progenitores de médula ósea o sangre periférica.
- b) La incidencia de complicaciones inmunológicas, como la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), es comparativamente menor.

c) El trasplante de SCU es más permisivo en cuanto a su histocompatibilidad.

d) Los resultados clínicos, en términos de recuperación inmunológica y supervivencia, son comparables a los obtenidos con médula ósea o sangre periférica adulta de donantes no emparentados.

En este contexto, los BSCU juegan un papel crucial ya que son el primer eslabón que condiciona el resultado clínico final. Estos deben conjugar una serie de estrategias, técnicas y funciones encaminadas a la obtención de un producto con las máximas garantías de calidad³⁶⁻³⁸.

5.1. INDICACIONES DE BÚSQUEDA DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS PROCEDENTES DE MÉDULA ÓSEA Y/O DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

1. Las solicitudes de búsqueda de la médula ósea y/o de sangre de cordón que cumplan los criterios referidos en el «Documento de indicaciones de búsquedas de progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón y/o médula ósea», aprobado por la Comisión Nacional de TMO (ver Anexo 3), serán directamente tramitadas y aprobadas por el INSALUD o por la Coordinación de Trasplantes autonómica correspondiente en las Comunidades Autónomas transferidas.

2. Aquellas otras solicitudes de búsqueda, que no cumplan los citados criterios, serán evaluadas individualmente por parte del Comité de Expertos.

5.2. MECANISMO DE SOLICITUD DE LAS BÚSQUEDAS DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

- **Requisitos generales para iniciar una búsqueda de médula ósea y/o de sangre de cordón**

Cuando un hospital precise realizar una búsqueda de cordón y/o de médula ósea, el mecanismo a seguir será el siguiente:

1. Diagnóstico: El paciente deberá cumplir los criterios referidos en el «Documento de indicaciones de búsquedas de progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón y/o médula ósea» aprobado por la Comisión Nacional de TMO (ver Anexo 3).

2. Antes de iniciar cualquier búsqueda es indispensable que un centro acreditado para trasplante alogénico no emparentado acepte la realización del trasplante de médula ósea o de sangre de cordón. Ello supone que si el paciente procede de un hospital no acreditado, deberá el médico responsable contactar con un centro acreditado y haber conseguido la consiguiente aprobación en cuanto a la indicación clínica de dicho trasplante.

- **Tramitación de las búsquedas**

1. Una vez establecido el diagnóstico y la indicación de trasplante de médula ósea y/o de sangre de cordón, la gerencia del hospital donde pertenece el facultativo que hace la indicación, tramitará, a través del INSALUD o de la coordinación de trasplantes autonómica correspondiente en las Comunidades Autónomas transferidas, una solicitud en la que conste:

a) Informe clínico del paciente, en el que figurará el nombre, edad, diagnóstico, peso, pruebas analíticas o diagnósticas efectuadas y situación actual del paciente. Asimismo, deberá constar el nombre del

hospital solicitante, dirección, teléfono y fax, así como el nombre del facultativo solicitante.

b) Impreso normalizado para tal fin cumplimentado por el facultativo responsable, en el que se indicará de forma razonada qué tipo de búsqueda solicita para el paciente:

1. Sangre de cordón exclusivamente.
2. Médula ósea exclusivamente.
3. Médula ósea y sangre de cordón de forma simultánea.

c) En el caso de que el hospital solicitante no esté acreditado para realizar trasplantes alogénicos no emparentados, deberá enviarse documento del hospital donde éste se fuera a realizar, con el compromiso explícito de aceptación de dicho paciente.

2. El INSALUD o la Coordinación Autonómica de Trasplantes de las Comunidades Autónomas transferidas comunicará en el plazo más breve posible si dicha solicitud es aceptada o no. En el caso de que la indicación no se encuentre incluida dentro del documento de indicaciones de búsquedas de médula ósea y/o cordón aprobado por la Comisión Nacional de TMO, dicha solicitud se remitirá a la Organización Nacional de Trasplantes, quien en un plazo máximo de 72 horas lo someterá al Comité de Expertos y proporcionará una respuesta razonada.

3. Una vez que el informe sea positivo, el hospital solicitante tramitará ante el REDMO la oportuna solicitud de búsqueda. El REDMO se ha comprometido a no iniciar ninguna búsqueda que no venga avalada por la correspondiente autorización del INSALUD o del organismo de gestión correspondiente en las Comunidades Autónomas transferidas.

El abono de los gastos que suponga la realización de las pruebas biológicas correspondientes de la búsqueda de la médula ósea y/o del cordón será efectuado por el hospital al que pertenezca el facultativo que inicie la

búsqueda. Los gastos relativos a la extracción de la médula o el de la propia unidad de sangre de cordón, el transporte, así como el del propio trasplante de la médula o del cordón, serán efectuados por el hospital que realice el trasplante.

- **Transporte de la médula ósea o de la unidad de sangre de cordón**

Una vez localizado un donante de médula ósea o una unidad de sangre de cordón adecuado para el paciente, se realizará su transporte hasta el centro trasplantador.

Con anterioridad suficiente a dicho envío, el REDMO solicitará, a través de la Organización Nacional de Trasplantes, la autorización correspondiente del Ministerio de Sanidad y Consumo para la entrada de la médula ósea o de la unidad de sangre de cordón a España (si éste se hubiera localizado en el extranjero). Para lo cual se deberá aportar lo siguiente:

1. Un informe en el que consten: nombre, edad y diagnóstico del paciente, nombre del hospital trasplantador y del médico responsable, nombre, dirección, teléfono y fax del Registro de Donantes Voluntarios de Médula Ósea o del Banco de Cordón del país de origen.
2. Plan de vuelo previsto: día y hora de salida y llegada, ciudad de origen y destino, nombre de la compañía y número de vuelo.
3. Código del donante o de la unidad de sangre de cordón.
4. Nombre y DNI de la persona encargada del transporte (si precisa).
5. Certificado del Registro de Donantes de Médula Ósea del país de origen en el que consten los estudios efectuados al donante de médula ósea o bien del Banco de Córdon de origen en el que consten los estudios efectuados a la unidad de sangre de cordón y a la madre que

sean necesarios para demostrar que no padecía enfermedad susceptible de constituir un riesgo para el receptor.

Tras su tramitación la Organización Nacional de Trasplantes enviará al REDMO la autorización correspondiente de entrada de la médula ósea o de la unidad de sangre de cordón a España.

5.3. TRANSPORTE DE LAS UNIDADES DE SANGRE DE CORDÓN

Las células de SCU serán recogidas en un contenedor estéril y sellado de forma que minimice el posible riesgo de pérdida celular o de contaminación microbiana. Este contenedor estará convenientemente etiquetado.

El transporte de las unidades de SCU se realizará de forma que se proteja adecuadamente la integridad de la SCU, así como la salud y seguridad del personal encargado del transporte. Las unidades de SCU *no deberán* pasar por el control de RX.

a) Transporte de las unidades de SCU no criopreservadas:

- Si es posible, la unidad de SCU será dispuesta en al menos 2 contenedores que estén convenientemente sellados.
- El contenedor exterior será termoaislable y de un material adecuado que evite posibles fugas del contenido, golpes, cambios de presión o cualquier otro incidente que pudiera ocurrir durante el transporte y deberá tener una cantidad de material absorbente suficiente que permita rellenar completamente el espacio existente entre ambos contenedores.
- Durante el transporte, las unidades de SCU serán mantenidas a la temperatura que indique el Banco de SCU.
- Se podrán emplear, según criterio del Banco, bolsas de gel congeladas o hielo. El hielo seco no debe nunca ser empleado.

b) Transporte de las unidades de SCU criopreservadas:

- Las unidades de SCU criopreservadas serán transportadas en un contenedor de nitrógeno líquido que mantenga una temperatura por

debajo de -80° C al menos durante 48 horas tras la hora estimada de llegada a su destino.

— El hielo seco no debe ser usado, a no ser que mantenga convenientemente la temperatura del componente a transportar.

— El contenedor exterior debe ser de un material adecuado para el transporte del material criogénico, conforme a la normativa vigente de este tipo de transporte.

— El contenedor exterior deberá estar convenientemente etiquetado, de acuerdo a la normativa vigente de transportes de material criogénico y de material biológico.

5.4. MECANISMO DE INTERCONEXIÓN DE LOS DIFERENTES BANCOS DE CORDÓN

En España existen actualmente varios proyectos de creación de Bancos de Cordón. La futura existencia de diversos bancos repartidos por toda la geografía hace imprescindible la creación de una red de bancos a nivel estatal que permita su accesibilidad tanto a nivel nacional como europeo.

El proyecto de creación de la red nacional de Bancos de Cordón se basa en que los diferentes bancos autorizados conformarán una red nacional donde se actualizarán y se gestionarán las existencias de unidades³⁸⁻⁴². Ésta se diseñará mediante la creación de una base de datos única y común para toda España donde estarán permanentemente censadas las muestras validadas para su uso en trasplante. La base de datos central será una base de consulta que utilizará como criterios de selección la identidad HLA. De esta manera se definirá un formato de datos mínimo para poder realizar una búsqueda en función de la compatibilidad HLA.

La base de datos para este fin será gestionada en el REDMO, al cual se enviarán los datos procedentes de los diferentes Bancos de Sangre de Cordón incluidos en el programa nacional. Esta base de datos requerirá 6 campos de HAL: 2 A, 2 B, 2 DR genéricos, los correspondientes a los subtipos DR, 1

campo de celularidad total, 1 campo de identificación de la unidad, 1 campo de identificación del banco, 1 campo con el número de teléfono o fax del centro.

El REDMO, al igual que lo viene haciendo para las búsquedas de médula ósea, será el organismo encargado en nuestro país de la gestión de las búsquedas de SCU para pacientes españoles tanto en los bancos nacionales como extranjeros, así como de las búsquedas solicitadas para pacientes extranjeros en los bancos de SCU nacionales.

El número idóneo de bancos y de unidades de SCU/pmp recomendable en un país o zona determinada es todavía una incógnita, dado el relativo desconocimiento actual de la trascendencia de la identidad entre donante y receptor sobre la evolución del trasplante. Según ello, la Comisión Nacional de TMO recomienda que hasta que se defina este aspecto por parte de los expertos nacionales o internacionales, en nuestro país se desarrollen un total de 3 Bancos de Cordón que aspiren a tener un total de 3.000 unidades en un plazo de 3 años. Esta recomendación se basa en la extensión habitual de las búsquedas de SCU tanto a nivel nacional como internacional y en el proyecto europeo que prevé disponer en toda Europa de unas 30.000 unidades en el plazo de 3 años.

Actualmente el Banco de SCU más importante es el Banco de SCU de New York. En Europa, existen Bancos de SCU en Dusseldorf, Milán, París, Austria, Bélgica y Londres.

A largo plazo, es esencial una comunicación fluida durante el proceso de las búsquedas entre los diferentes países europeos. Este objetivo está considerado como prioritario dentro del proyecto EUROCORD, utilizando los recursos ya existentes y/o creando otras alternativas específicas. Se prevé que esta interconexión en Europa será por Internet. El REDMO será el encargado de conectar con los Bancos de SCU nacionales y extranjeros durante el proceso de las búsquedas, sin perjuicio de que los Bancos de SCU nacionales se encuentren conectados con el REDMO y entre sí mediante Internet u otra conexión.

Para hacer posible la interconexión europea es necesario que los diferentes Bancos de SCU nacionales mantengan un sistema de homologación y controles de calidad validados a nivel internacional.

6. SITUACIÓN LEGAL EN ESPAÑA DE LOS TRASPLANTES DE CORDÓN

Los trasplantes de progenitores hematopoyéticos procedentes de cordón umbilical se encuentran en España reglamentados por el reciente «Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos». El cordón umbilical y los progenitores hematopoyéticos obtenidos a su través no se consideran, a efectos de este Real Decreto, como producto de desecho⁴³.

En resumen, los diferentes aspectos que observa dicho Real Decreto en relación con la SCU son los siguientes:

6.1. DONACIÓN DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL.

La donación de SCU deberá reunir y garantizar los siguientes puntos:

- La confidencialidad. Se ha de garantizar que toda la información relativa a los donantes y receptores será recogida, tratada y custodiada en la más estricta confidencialidad. En ningún caso podrán facilitarse ni divulgarse informaciones que permitan la identificación del donante ni del receptor. Asimismo, el receptor no podrá conocer la identidad del donante, ni el donante del receptor, a excepción de los donantes de cordón genéticamente relacionados.
- La promoción y publicidad de la donación de cordón se realizará siempre con carácter general y señalando su carácter voluntario,

altruista y desinteresado. Asimismo, se prohíbe la publicidad de la donación en beneficio de personas concretas o de Bancos de Cordón determinados.

— La gratuidad. No se podrá percibir ninguna compensación económica ni de ningún otro tipo por la donación, ni se exigirá precio alguno al receptor por el cordón. Las actividades desarrolladas por los Bancos de Cordón serán sin ánimo de lucro, debiendo existir exclusivamente la compensación de gastos derivados de su actividad.

— La finalidad será exclusivamente terapéutica, con el propósito de favorecer la salud o las condiciones de vida del receptor, sin perjuicio de las investigaciones que puedan realizarse adicionalmente. En todo caso, la utilización de cordones en función de un proyecto docente o de investigación deberá respetar los derechos fundamentales de la persona y los postulados éticos de la investigación biomédica.

— La obtención previa de la firma de un consentimiento informado. La obtención de los progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón umbilical requiere que el donante haya sido previamente informado y otorgue su consentimiento de forma expresa, libre, consciente y desinteresada. No podrá obtenerse de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental o cualquier otra causa no puedan otorgar su consentimiento en la forma indicada. El consentimiento deberá formalizarse por escrito y ser firmado por el donante y el médico. En ningún caso podrá efectuarse la obtención sin la firma previa de este documento.

6.2. CENTROS DE OBTENCIÓN.

Centros de Trasplante y Bancos de Cordón. Este Real Decreto tiene carácter de norma básica, por lo que es de obligado cumplimiento en todo el Estado y contiene, entre otros, aquellos requisitos mínimos necesarios para realizar las actividades tanto de obtención como de implante de progenitores hematopoyéticos procedentes de SCU, así como para los Bancos de Cordón.

La acreditación correspondiente de los centros que deseen realizar cualquiera de estas actividades es competencia de las diferentes Comunidades Autónomas, que podrán realizar sus correspondientes desarrollos reglamentarios donde se igualen o eleven estos requisitos mínimos, pero nunca disminuirlos.

En general, para la realización de trasplantes de cordón procedentes de donantes familiares, el centro deberá reunir los criterios necesarios para la realización de trasplantes alogénicos a partir de donantes familiares, y para la realización de trasplantes de cordón no emparentados, los criterios necesarios para realizar trasplantes alogénicos a partir de donantes no emparentados.

Los trasplantes de cordón podrán realizarse previa firma de un consentimiento informado por el receptor o sus representantes legales y deberá ser firmado además por el médico que efectúe el trasplante y por el médico que informó al receptor. Este documento quedará archivado en la historia clínica del paciente y se dará una copia al interesado. Asimismo en la historia clínica del paciente se recogerán los datos necesarios que permitan identificar al cordón y su procedencia.

Los Bancos de Cordón: son aquellas unidades técnicas que tienen por misión garantizar la calidad de los cordones después de su obtención y hasta su utilización clínica. Estos centros se encargarán del procesamiento, preservación, almacenamiento, control de calidad, distribución y transporte de los cordones. Los criterios mínimos para la acreditación de estos Bancos de SCU se encuentran referidos también en el citado Real Decreto.

6.3. ENTRADA DE MÉDULA ÓSEA Y UNIDADES DE SANGRE DE CORDÓN A ESPAÑA.

El Ministerio de Sanidad y Consumo autorizará, previo informe de la Organización Nacional de Trasplantes, la entrada de cualquier médula ósea o unidad de sangre de cordón a España. Para ello se precisará lo siguiente:

- En el caso de médula ósea: un informe en el que consten los datos del paciente, informe del Registro de Donantes de Médula Ósea del país de origen en el que consten las garantías éticas y sanitarias observadas en su institución y un certificado en el que consten los estudios efectuados al donante que sean necesarios para demostrar que no padecía enfermedad susceptible de constituir un riesgo para el receptor.
- En el caso de sangre de cordón: un informe en el que consten los datos del paciente, informe del Banco de Cordón del país de origen en el que consten las garantías éticas y sanitarias observadas en su institución y un certificado firmado por el director del Banco del país de origen, en el que consten los estudios efectuados a la donante (la madre) y a la unidad de SCU que sean necesarios para demostrar que no padecía enfermedad susceptible de constituir un riesgo para el receptor.

6.4. SALIDA DE MÉDULA ÓSEA Y DE UNIDADES DE SANGRE DE CORDÓN DE ESPAÑA.

El Ministerio de Sanidad y Consumo autorizará, previo informe de la Organización Nacional de Trasplantes, la salida de cualquier médula ósea o de unidad de sangre de cordón de España. Para ello se precisará:

- En el caso de médula ósea: un informe del hospital extranjero en el que consten datos del receptor y su compromiso del pago de los gastos de la extracción de la médula ósea al donante, así como un informe relativo a los estudios efectuados al donante que sean necesarios para demostrar que no padecía enfermedad susceptible de constituir un riesgo para el receptor.
- En el caso de sangre de cordón: un informe del hospital extranjero en el que consten los datos del receptor y su compromiso del pago de los gastos que supongan la preservación de la SCU que tuviera establecido el Banco de Cordón español, así como un informe del Banco de Cordón español en el que consten los datos relativos a la donante (la madre) y a

la unidad de SCU que sean necesarios para demostrar que no padecía enfermedad susceptible de constituir un riesgo para el receptor.

6.5. TRANSPORTE DE LA MÉDULA ÓSEA Y DE LAS UNIDADES DE CORDÓN.

El transporte de la médula ósea o de las unidades de sangre de cordón se realizará bien desde el hospital extractor o bien desde el Banco de Cordón de origen hasta el Centro de Trasplante. El envío será realizado empleando los medios de transporte que sean precisos en cada caso. El transporte se realizará en un sistema con capacidad para mantener las adecuadas características de la médula ósea o del cordón (según el caso) y se acompañará de:

1. Etiquetado exterior en el que conste: tipo de tejido de que se trata, procedencia y destino, día y hora de salida, e instrucciones de transporte.
2. Documentación destinada al centro receptor en la que conste: la descripción del tejido y solución de preservación, relación de las pruebas efectuadas, instrucciones para la descongelación y la utilización, así como código del donante o de la unidad de SCU, que permita su seguimiento y que se deberá archivar en la historia clínica del receptor.
3. Documento escrito de autorización por parte del Ministerio de Sanidad y Consumo de entrada o salida del tejido en el que se haga constar que se cumplen los requisitos exigibles para la misma.

7. ASPECTOS ÉTICOS DE LOS TRASPLANTES DE CORDÓN

La posibilidad de realizar trasplantes no relacionados de SCU a un gran número de pacientes viene condicionada por la creación de Bancos de SCU, donde se almacenen un número elevado de cordones criopreservados. Por esta razón, es muy importante tener en consideración los aspectos éticos

asociados a esta práctica. Desde este punto de vista deben mencionarse los siguientes puntos:

7.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Para la punción del cordón umbilical y la obtención de su sangre se requiere previamente la autorización escrita tras un consentimiento informado de la embarazada. La información dada a la eventual donante debe incluir una descripción simple del sistema de recogida de la SCU, la confidencialidad de los datos, la necesidad de obtener información de la madre para el despistaje de enfermedad infecciosa u otras patologías, la de obtener muestras de sangre periférica materna, la recomendación de un seguimiento posterior de la madre y del niño, así como del tipo de donación que realiza. Dicho consentimiento informado deberá ser firmado también por el médico que informó a la donante.

7.2. PROPIEDAD DE LA SCU.

La donación de SCU permite 3 tipos de donantes diferentes:

1. Donación autóloga, cuando la SCU es conservada únicamente con vistas a su eventual utilización por el propio recién nacido en el caso de padecer en un futuro enfermedad susceptible de precisar un trasplante. En este caso, la SCU será únicamente conservada si existe en el recién nacido algún tipo de diagnóstico preestablecido.
2. Donantes familiares, cuando la conservación de la SCU se realiza únicamente para un familiar genéticamente relacionado (v.g., un hermano) que padece una enfermedad susceptible de precisar un trasplante.
3. Donantes no emparentados, cuando la donación de la SCU se realiza de forma altruista para cualquier paciente no emparentado y anónimo que pueda precisar un trasplante de este tipo. No se contemplarán las donaciones dirigidas a una persona determinada. Para evitar cualquier tipo de reclamación ulterior, resulta imprescindible que se obtenga por

parte del donante un consentimiento informado que especifique claramente el tipo de donación que realiza.

7.3. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS.

La positividad de algunas pruebas de despistaje de infecciones puede tener trascendencia para la salud de la madre o del niño y requerir actuaciones clínicas para asegurar un seguimiento correcto de los mismos o bien por razones de salud pública. Para que esto se pueda llevar a cabo es necesaria la posibilidad de hacer algún seguimiento de los donantes de SCU y de las madres, lo que podría coordinarse con programas de medicina preventiva ya existentes que incluyan exámenes ginecológicos postparto y controles pediátricos. La madre y el médico correspondiente deberán ser informados del resultado de las pruebas.

7.4. PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD.

Se considera esencial que se tomen medidas estrictas dirigidas a asegurar al máximo la privacidad y confidencialidad de toda la información obtenida en la actuación de los bancos de SCU. Este punto es importante para evitar, además, la presión que eventualmente pudiera ejercerse sobre el donante o su familia para obtener progenitores hematopoyéticos procedentes de distinta fuente a la de la de la sangre del cordón umbilical.

7.5. GARANTÍA DE CALIDAD DE LOS BANCOS DE SCU.

Los Bancos de SCU realizarán aquellos controles de calidad adecuados a la normativa vigente y al conocimiento científico, que garanticen que se minimicen los riesgos de transmisión de enfermedades al receptor. Asimismo, mantendrán una seroteca al menos durante 5 años a partir de empleo de la SCU para hacer posibles controles biológicos posteriores a su implantación; además, mantendrán un registro adecuado de los datos de la SCU almacenada o implantada, así como de los donantes y de sus madres en el momento del alumbramiento.

7.6. ACTUACIÓN JUSTA.

Los Bancos de Cordón deben desarrollarse asegurando que la recogida y distribución de SCU se realizará con independencia de la raza, nivel social o grupo étnico. Asimismo deberán garantizar que la distribución se realizará únicamente sobre la base de criterios clínicos e inmunológicos entre la SCU y el receptor.

II. JUSTIFICACIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La aplicación de quimio/radioterapia supraletal seguida de rescate hematopoyético está actualmente reconocida como una forma efectiva de tratamiento de diversos tipos de neoplasias y enfermedades no malignas.

La médula ósea y la sangre periférica movilizada son las fuentes de progenitores hemopoyéticos más habitualmente utilizadas en el rescate de los pacientes sometidos a tratamientos mieloablativos. Recientes experiencias clínicas han demostrado la posibilidad de utilización de los precursores hemopoyéticos de sangre de cordón umbilical (SCU) en estas situaciones¹⁹.

Ontogénicamente, la hematopoyesis se inicia en el saco vitelino entre los días 15 y 18 de desarrollo. A partir de la sexta semana de gestación se empieza a detectar en el parénquima hepático y en el bazo. Finalmente, alrededor de la semana 20 se inicia la hematopoyesis a nivel de la médula ósea, donde permanecerá casi exclusivamente durante toda la vida adulta⁴⁴.

Durante los cambios a nivel de órganos hemopoyéticos detectados durante las épocas embrionaria y fetal se produce un aumento de progenitores circulantes que indicaría una migración de las células progenitoras hematopoyéticas a través del torrente sanguíneo entre los diferentes lugares.

Durante las primeras 24 horas después del nacimiento todavía se detectan precursores hemopoyéticos circulantes en sangre periférica que van declinando de forma progresiva. Asimismo, la sangre del cordón umbilical, habitualmente desechada, contiene un número apreciable de precursores hemopoyéticos (CFU-GM, CFU-GEMM, CFU-MK y LTCIC) detectables por ensayos «in vitro».

Este hecho ha motivado que las células hemopoyéticas contenidas en la SCU sean consideradas como una fuente de hemopoyesis alternativa en el tratamiento de ciertas enfermedades hematológicas⁴⁵⁻⁴⁶.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y ESTADO ACTUAL DE LOS TRASPLANTES DE CORDÓN

2.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS DE LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL.

a) *Número de células progenitoras hematopoyéticas.* La experiencia clínica ha demostrado que la SCU contiene suficientes células hematopoyéticas como para reconstituir la hemopoyesis en pacientes, al menos hasta 40 kilos de peso. Aunque ya se han realizado con éxito los primeros trasplantes de SCU en pacientes adultos de peso superior, no hay todavía suficiente experiencia en adultos como para asegurar que la eficacia sea la misma en receptores de mayor peso y superficie corporal⁴⁷⁻⁴⁸.

b) *Capacidad proliferativa de las células progenitoras hematopoyéticas.* Se ha demostrado que las características de las células progenitoras de la SCU difieren de las de la médula ósea. Las células progenitoras hematopoyéticas de la SCU contienen una mayor proporción de células CD34+ primitivas con mayor capacidad clonógena en presencia de factores de crecimiento añadidos y con capacidad mucho mayor de generar colonias secundarias. Existen asimismo diferencias en las características fenotípicas entre las células progenitoras primitivas de la SCU y de la médula ósea.

c) *Alorreactividad disminuida.* Si bien la capacidad de proliferar de los linfocitos T de la SCU frente a estímulos alogénicos primarios es similar a la de la sangre o la médula ósea del adulto, su actividad citotóxica basal es menor. También se han observado niveles inferiores en varias citocinas, inmadurez funcional de las células dendríticas y menor actividad celular NK, aunque este último hallazgo no ha sido uniformemente contrastado.

Los citados hallazgos podrían explicar, al menos en parte, la menor intensidad de las reacciones injerto contra huésped (EICH) observadas en los trasplantes con SCU y que permiten emplear unidades con diferencias en el complejo mayor de histocompatibilidad en 1 y hasta 2 antígenos⁴⁹.

d) *Expansión «ex-vivo» de las células progenitoras hematopoyéticas.* La capacidad de expansión de las células progenitoras hematopoyéticas de la SCU es superior a las de la médula ósea o las de sangre periférica después de movilización⁵⁰. Si bien los resultados más espectaculares se han obtenido con células progenitoras hematopoyéticas comprometidas, estudios recientes parecen demostrar que también las células progenitoras más primitivas como las CD34+ CD38- pueden ser expandidas. De confirmarse la posibilidad de expandirse las células progenitoras hematopoyéticas primitivas, tendría una importante repercusión en la aplicación de la SCU tanto en el terreno de los trasplantes como en el de la terapia génica⁵¹⁻⁵³.

2.2. VENTAJAS Y PROBLEMAS DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS DE SCU RESPECTO A OTRAS FUENTES.

Entre *las ventajas* de los trasplantes de SCU figuran las siguientes:

- 1) Suficiente cantidad y facilidad de obtención de los progenitores hematopoyéticos de la SCU sin riesgo para el donante.
- 2) Posibilidad de obtención de las minorías étnicas.
- 3) Baja prevalencia de ciertas enfermedades transmisibles.
- 4) Disponibilidad casi inmediata de las unidades de SCU ya almacenadas, lo que permite la realización del trasplante con la urgencia necesaria.
- 5) Menor alorreactividad, lo que implica, por un lado, menor capacidad de inducir enfermedad injerto contra huésped (EICH) y por otro, permite la posibilidad de utilizar unidades de SCU no idénticas en el sistema HLA.
- 6) Menor coste económico que las búsquedas de médula ósea.

7) Elevado potencial hematopoyético de estos progenitores.

En este tipo de trasplante, aún quedan bastantes incógnitas por resolver.

Entre *los problemas* que suscita el empleo de la SCU destacan los siguientes:

1) Hasta ahora la mayoría de los trasplantes de SCU que se han realizado han sido en niños con peso inferior a 40-50 kilos. Aunque ya se han realizado trasplantes de SCU en adultos con resultados esperanzadores, aún queda por definir cuál es el número mínimo de células progenitoras hematopoyéticas necesario para reconstituir el sistema hematopoyético de los pacientes. Los datos actuales sugieren que existe una relación inversa entre el número de células infundidas y el tiempo de prendimiento.

2) El menor grado de EICH hace temer que la eficacia del efecto inmunológico injerto-contra-leucemia sea menor en los trasplantes de SCU. Aunque los datos son aún insuficientes, parece que el citado efecto es similar al obtenido con los trasplantes de médula ósea o con sangre periférica.

3) Definición del grado de incompatibilidad HLA admisible.

4) Definición de las indicaciones de estos trasplantes.

5) Definición de aspectos técnicos relacionados con el manejo y conservación de los progenitores.

6) Definición del número de unidades de cordón almacenadas que sería recomendable según la relación coste/beneficio.

7) Aspectos éticos en relación a estos trasplantes, etc.

2.3. RESULTADOS CLÍNICOS DE LOS TRASPLANTES DE SCU.

Las indicaciones fueron hemopatías malignas y enfermedades genéticas. Se comprobó el implante en más del 90% de los pacientes; la reconstitución de granulocitos y plaquetas fue más lenta que en los trasplantes de médula ósea, pero la frecuencia e intensidad de la enfermedad injerto contra

huésped (EICH) fue menor. Hasta ahora la tasa de recaída en las hemopatías malignas es similar a la que se presenta en los trasplantes con médula ósea⁵⁴⁻⁵⁶.

Los resultados iniciales obtenidos con SCU de hermanos llevaron a considerar la posibilidad de utilizar la SCU de donantes no emparentados. En 1993 se constituyó en el «New York Blood Center» el primer banco público de SCU con ayuda del «National Heart, Lung and Blood». En este centro, la SCU y la placenta de neonatos sanos nacidos en el Hospital Mount Sinai de New York se recogió, se analizó y se criopreservó guardándose para su posterior uso. La madre debía otorgar su consentimiento para la recogida de la SCU y para que fuesen practicadas a ella diversas pruebas serológicas y examen de HLA, así como responder a un cuestionario sobre antecedentes patológicos familiares, especialmente enfocado a descartar enfermedades hereditarias hematológicas y otras enfermedades genéticas.

En resumen, los resultados preliminares obtenidos confirman que la SCU constituye una fuente de progenitores hemopoyéticos capaz de reconstituir la hemopoyesis en niños y probablemente en una proporción notable de adultos. Es prematuro conocer si esta fuente de progenitores hemopoyéticos puede llegar a ser preferible al empleo de médula ósea o sangre periférica de donantes no emparentados o de donantes familiares con disparidad HLA. En cualquier caso justifica su empleo, siendo imprescindible una recogida cuidadosa de datos en Registros Internacionales.

En España, el banco de cordón de Barcelona fue el primero en iniciar sus actividades en 1995, posteriormente se fueron incorporando los bancos de Madrid, Málaga, Galicia, Canarias y Valencia. A fecha de 2001 contaban en su haber con 11.155 unidades de SCU y se habían realizado 133 trasplantes de SCU no emparentado.

En 1998, Rubinstein y cols publicaron los resultados de 562 trasplantes de SCU no emparentado. El seguimiento clínico mostró prendimiento mieloide en el día 42 para el 81% de los pacientes y prendimiento plaquetar en el día 180 para el 69%. La incidencia de EICH crónica ocurrió solamente en el 12% y

fue poco severa. Desde octubre de 1988 hasta marzo de 2000 se han comunicado a EUROCORD los datos de 700 trasplantes procedentes de 121 centros pertenecientes a 29 países. De estos, 150 casos fueron de donante emparentado y 534 de donante no emparentado (378 niños y 156 adultos).

Del análisis de estos resultados se concluye que los trasplantes de SCU HLA idénticos de donante emparentado tienen menos EICH e idéntica supervivencia que los trasplantes de MO en las mismas condiciones. Respecto a los trasplantes de SCU no emparentados, los resultados son similares a los de MO. Una conclusión unánime de estos estudios es que, el factor crucial en el resultado favorable del trasplante es el número de células nucleadas infundidas /Kg de peso, aconsejándose una dosis a infundir $> 3 \times 10^7/\text{Kg}$, aunque recientemente en la misma serie de pacientes antes mencionada se comprobó que la dosis de UFC (unidades formadoras de colonias) era un parámetro más predictivo de la supervivencia post-trasplante que la dosis de células nucleadas, observándose prendimiento y trasplante libre de enfermedad a partir de una dosis de 5×10^4 UFCs/Kg.

De entre los hospitales de España que vienen realizando trasplantes de SCU, cabe mencionar que el hospital "La Fe" de Valencia lleva realizados más de 30 trasplantes. En un trabajo, recientemente publicado por este grupo, se evalúan los resultados de una serie de 22 adultos, de los cuales 12 viven y están libres de enfermedad, aun habiéndoseles infundido una mediana de $1,71 \times 10^7$ células mononucleadas/Kg. Cabe resaltar los mejores resultados con pacientes más jóvenes.

Uno de los principales problemas que plantean los trasplantes de SCU, es la baja celularidad de una unidad de SCU y el retraso del prendimiento mieloide y plaquetar, en comparación con los trasplantes de MO, por lo que la expansión *ex vivo* se vislumbra prometedora, no solo porque aportaría al paciente un número suficiente de PHs que acortarían el período de aplasia, sino porque permitiría su uso en adultos.

3. FACTORES OBSTÉTRICOS QUE AFECTAN A LA CALIDAD DE LA SANGRE DE CORDÓN

El impacto de los factores obstétricos sobre la calidad de las unidades de sangre de cordón umbilical ha sido investigado por algunos autores. Donaldson y colaboradores⁵⁷ concluyeron que los factores con significación estadística que afectan al volumen y al número total de células nucleadas fueron la duración de la gestación, el tiempo transcurrido desde el nacimiento del bebé hasta el clampaje del cordón y la duración total del trabajo de parto.

Otros autores han mostrado que los recién nacidos de mayor edad gestacional tuvieron mayor número de células pero menor número de células CD34+ y de CFU-GM. Los recién nacidos de mayor peso tuvieron mayor número de células, más CD34+ y CFU-GM⁵⁸. Una larga duración del estrés durante el parto aumenta el número de células nucleadas, granulocitos, células CD34+ y progenitores hematopoyéticos⁵⁹. En el estudio de Solves y colaboradores no se halló diferencias entre las características maternas o neonatales de los diferentes grupos⁶⁰.

Los factores obstétricos están más allá de la persona que recoge la unidad de sangre de cordón pero el modo de recogida sí puede ser controlado. Actualmente, no hay un consenso sobre el procedimiento de la recogida de unidades de sangre de cordón en las maternidades⁶¹.

Survek y colaboradores⁶² compararon ambas estrategias en los partos vaginales y concluyeron que la recogida intraútero rendía un mayor volumen y un mayor número de células mononucleadas⁶³. Los resultados de un reciente estudio demostraron que las concentraciones medias de células nucleadas y CFUs total fueron significativamente más bajas en la sangre de cordón recogida tras el alumbramiento cuando se comparó con sus muestras recogidas antes del alumbramiento placentario. La incidencia de coágulos macroscópicos fue también más alta en la recogida *ex útero*. La disminución de

células reproductoras y hematopoyéticas es posiblemente debida a los coágulos que se producen con el tiempo.

Sparrow y cols. no encontraron diferencias entre las dos formas de recogida en los partos vaginales o entre partos vaginales y cesáreas, aunque hubo una tendencia a una mayor concentración de células y de volumen recogido en las recolecciones in útero⁶⁴.

Solves y cols. consideran que la recogida antes del alumbramiento es la mejor aproximación que permite optimizar la metodología del banco de sangre de cordón y según sus resultados, los partos por cesáreas parecen contener las mismas células hematopoyéticas que los partos vaginales⁶⁰.

Así pues, la sangre de cordón posee ventajas indudables respecto a otras fuentes de progenitores hematopoyéticos, como son su fácil disponibilidad y la inmadurez de sus células. Sin embargo, tiene un inconveniente importante que es su contenido limitado en células progenitoras. Por ello, diversos estudios intentan soslayar el inconveniente del contenido limitado en células progenitoras optimizando la selección de las donantes y la recogida de la sangre para aumentar su calidad.

Aunque actualmente existen trabajos que se han ocupado de la influencia de los factores obstétricos, éstos no son siempre concordantes, ya que el número de casos estudiado es limitado, por lo que tienen escaso poder. Además, el análisis no es del todo apropiado, puesto que estudian sólo la influencia de un/os determinados factores, obviando la posibilidad de interacciones.

Existen pocos estudios que analicen las características de aquellas unidades procedentes de embarazos / partos con patologías frecuentes tales como: preeclampsia, prematuridad, retrasos de crecimiento intrauterino, oligoamnios, patologías maternas no infecciosas etc., y si estas donaciones que actualmente se desechan, pudiesen ser útiles para trasplante.

Se ha observado que la acidosis fetal se asocia a una mayor cantidad y calidad de la sangre de cordón, así pues, de manera semejante, situaciones con patología obstétrica que se asocian a hipoxia aguda o crónica, podrían incrementar la calidad de la sangre de cordón.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la hipoxia mediaría un incremento en progenitores hematopoyéticos útiles para el trasplante.

Otro aspecto controvertido es el tipo de extracción de las unidades de sangre de cordón. Aunque parece claro que en los partos vaginales la extracción intraútero proporciona unidades con mayor volumen y celularidad, en las cesáreas los estudios muestran resultados contradictorios. Postulamos que la extracción intraútero en caso de cesáreas mejoraría la calidad de la sangre.

III. OBJETIVOS

Con la finalidad última de obtener muestras de sangre de cordón umbilical de mayor calidad para ser útiles para trasplante (según cantidad y calidad de los progenitores hematopoyéticos), se pretende:

1. Determinar la influencia de los parámetros obstétricos en la calidad de la sangre de cordón.

Investigar las asociaciones entre los diferentes parámetros hematológicos y las variables materno-fetales.

Analizar los parámetros hematológicos en función de las variables cualitativas materno-fetales.

2. Comparar dos formas de recogida de las unidades de sangre de cordón (con placenta intraútero y tras la expulsión de la misma) en las cesáreas, tanto electivas como por otras causas.

Comparar las muestras procedentes de cesáreas con las procedentes de partos vaginales.

3. Determinar si la patología materno-fetal, influye en la calidad de la sangre de cordón umbilical.

Evaluar la influencia de diversas patologías obstétricas relativamente frecuentes en nuestra población, sobre los parámetros hematológicos.

Valorar si deben constituir criterios de exclusión en la donación de sangre de cordón.

IV. TIPO DE DISEÑO

Estudio de cohortes prospectivas en el que se analizan, de forma retrospectiva, variables contenidas en la Historia Clínica para tratar de explicar las diferencias encontradas en las unidades de sangre de cordón entre los distintos grupos, en cuanto a cantidad de precursores hematopoyéticos y otros parámetros.

V. LUGAR DE EJECUCIÓN

El estudio se ha llevado a cabo en el Hospital Universitario Maternal La Fe en coordinación con el Banco de Sangre de Cordón Umbilical de la Comunidad Valenciana.

Se trata de un hospital terciario que abarca la población de los departamentos de salud 6 y 7. El número total de los partos asistidos entre los que se recogieron los datos de la presente tesis durante el período de investigación fueron 16076 (Año 2002 – 5008, año 2003 – 5371, y el año 2004 – 5697).

VI. MATERIAL

1. IMPRESOS PARA LA DONACIÓN DE SCU

El folleto informativo sobre la donación de sangre de cordón umbilical junto con el consentimiento informado para la donación voluntaria de sangre de cordón umbilical, el formulario de recogida de datos del parto y el cuestionario de autoexclusión, quedan recogidos en los anexos I a III respectivamente.

2. MATERIAL PARA LA OBTENCIÓN DE LA SCU

Para la recogida de la SCU se utilizaron 2 tipos de sistemas:

- 1) Bolsa de extracción de 350 ml con 49 ml de anticoagulante CPD-A y aguja de 16 G (Baxter Healthcare Corporation, Fenwal Division, IL, USA).
- 2) Bolsa triple con 21 ml de anticoagulante CPD (Macopharma, Torucoing, Cedex France).

3. MATERIAL PARA EL PROCESAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA SCU

Las bolsas de transferencia de 150 ml y las bolsas de congelación Cryocyte de 50 ml fueron proporcionadas por Baxter (Baxter Healthcare Corporation, Fenwal Division, IL, USA). Los tapones para toma de muestras fueron proporcionados por MacoPharma.

Los frascos de cultivo para aerobios y anaerobios BacT/ALERT fueron suministrados por Organon Teknica. El medio de cultivo Methocult GF H4434 fue proporcionado por StemmCell Technologies Inc. (Vancouver, Canada).

Para el fraccionamiento de la SCU, se utilizó el hidroxietil almidón (HES) de Grifols (Barcelona). Para preparar la solución de congelación se utilizó dextrano 40 y dimetilsulfóxido (DMSO). El dextrano 40 fue proporcionado por Fresenius Kabi (Barcelona) y el dimetilsulfóxido en ampollas estériles de 10 y 20 ml fue proporcionado por B/Braun (Braun medical, Cedex, France).

Los criotubos fueron suministrados por Nalge Nunc International. Los anticuerpos monoclonales utilizados para la caracterización inmunofenotípica de los progenitores hematopoyéticos (anti-CD45 y anti-CD34) fueron suministrados por Becton Dickinson (San Jose, CA, USA).

4. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA

A continuación presentamos la caracterización de nuestra muestra de un total de 759 unidades de SCU incluidas en el estudio. Para objetivar los datos con mayor claridad y sencillez, hemos dividido la información en los siguientes apartados:

1. Datos maternos.
2. Datos relacionados con el parto.
3. Datos neonatales.
4. Datos relacionados con el bienestar fetal.
5. Tipo de recolección de SCU.
6. Datos hematológicos.

4.1. DATOS MATERNOS

En cuanto al análisis descriptivo de los datos maternos, podemos resumir que se incluyeron pacientes cuyas edades oscilaron entre los 18 y los 48 años de **edad** con una media de 32 ± 5 años.

Respecto a la **paridad** el 60.5% de las mujeres (n=420) no tenía ningún parto previo y para el 32.1% (n=223) se trataba de su segundo parto. El 15.6 % tenía uno o más abortos previos.

La gran mayoría de las pacientes eran mujeres sin patología (71.6%). De las pacientes que sí presentaban **patología**, se identificaron 7 casos de estados hipertensivos del embarazo, 4 casos de oligoamnios, 6 casos de diabetes mellitus no insulino dependiente y 19 insulino dependientes, 128 casos de prematuridad, 7 casos de embarazos gemelares, 14 casos de hipotiroidismo materno, 4 casos de lupus y 8 casos de pacientes hipertensas crónicas.

4.2. DATOS RELACIONADOS CON EL PARTO

En cuanto a los datos relacionados con el parto, cabe destacar que la **edad gestacional** media fue de 38 ± 2.5 semanas con un rango que oscila entre 25 y 42 semanas.

La media de **duración del parto** en horas (teniendo en cuenta el trabajo de parto a partir de los 3 cm de dilatación con cérvix borrado y dinámica regular establecida hasta el nacimiento del producto) fue de 4 ± 3 horas, y un **tiempo medio de rotura de membranas** de 7 ± 6 horas.

La **analgesia** recibida por la paciente durante el periodo de dilatación fue mayoritariamente (55%), la mezcla lítica, la cual se trata de una combinación sinérgica de meperidina, haloperidol y un antihistamínico. Al 31% de las mujeres les fue administrada anestesia epidural.

Respecto a la **forma de terminación del parto**, al 48.5% (n=361) de las pacientes le fue practicada una cesárea, un 38.7% (n=288) tuvo un parto vaginal espontáneo y el resto, parto instrumentado.

4.3. DATOS NEONATALES

En cuanto a los datos neonatales, se obtuvo una media de **peso del recién nacido** de 3200 gramos \pm 604, oscilando en un rango de 740 a 5160 gramos de peso. El **percentil** medio de peso hallado fue un P55. Se consideró al 3% de la muestra de recién nacidos como pequeños para la edad gestacional, al hallarse por debajo del P10 para su edad gestacional. Por el contrario el 9% de la muestra fue considerada como grande para la edad gestacional al poseer percentiles por encima del P90.

Respecto al **sexo del recién nacido**, en el 53% de los partos se obtuvo un varón. La media del **peso de la placenta** se situó en 654 ± 143 gramos.

Cabe destacar que se incluyeron en la muestra un total de 109 prematuros (ver distribución en tabla 6). Según la edad gestacional, podemos agrupar a los recién nacidos de la siguiente manera:

Recién nacido **pretérmino** (semana 24 hasta la 37) : 20.8%

Recién nacido **a término** (semana 37 hasta la 42): 73.9%

Recién nacido **postérmino** (mayor de 42 semanas): 5%

4.4. DATOS RELACIONADOS CON EL BIENESTAR FETAL

Respecto a los parámetros que evalúan el bienestar fetal, podemos destacar el **equilibrio ácido-base**, con una media de pH arterial de 7.26 ± 0.06 , oscilando en un rango entre 7.04 – 7.42, y un pH venoso medio de 7.32 ± 0.06 , rango entre 7.12 – 7.48. En tanto al **aspecto del líquido amniótico** la gran mayoría fue claro, frente a un 15% de líquido meconial.

También se registró la puntuación obtenida en el **Test de Apgar** al primer y al quinto minuto, obteniéndose niños vigorosos excepto en el 4.6 y 0.6% de los recién nacidos respectivamente, en que la puntuación se situó por debajo de 7.

4.5. TIPO DE RECOLECCIÓN DE LA SCU

En relación con el tipo de recolección realizada para obtener la sangre de cordón, se utilizó la **forma exútero** en el 46.9% de las veces (n=345), y en el 53.1% (n=391) de las gestaciones, se extrajo la sangre **intraútero** (antes del alumbramiento placentario).

4.6. DATOS HEMATOLÓGICOS

Por último describiremos los datos relacionados con la muestra propiamente dicha, es decir, las unidades de sangre de cordón. La calidad de una muestra de sangre para su uso en trasplante de células progenitoras hematopoyéticas está determinada por el conteo total de células nucleadas y el de células CD34+ y existen diversos factores que pueden modificar estos parámetros. Más adelante, en el apartado de resultados, nos encargaremos de su análisis.

Se consiguió un volumen medio de recogida de SCU de 96.53 ml \pm 31.8, dichas muestras poseían una media de 9.99 \pm 6.13 Células Nucleadas Totales (CNT) por 10^8 . Tras aplicar el procesamiento correspondiente a las unidades de sangre de cordón umbilical, obtuvimos una celularidadnucleada total de 9.23 \pm 4.3 por 10^6 , y un conteo de CD34 medio de 3.34 \pm 3.15 por 10^6 .

5. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

5.1. VARIABLES CUANTITATIVAS

CARACTERÍSTICAS MATERNO-FETALES Tabla 1

VARIABLE	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
Edad Materna (años)	31,76	5,14	738
Edad Gestacional (semanas)	38,36	2,453	694
Duración parto (horas)	4,33	3,023	494
Tiempo de rotura de membranas (horas)	6,93	5,936	617
Peso del RN (gramos)	3200,23	604,279	696
Peso de la placenta (gramos)	654,42	142,653	686
pH arteria	7,2559	0,06223	329
pH vena	7,3169	0,05789	300

CARACTERÍSTICAS DE LAS UNIDADES DE SCU Tabla 2

VARIABLE	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
Volumen recogida en ml	96,526	31,8062	739
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	9,9879	6,12517	739
CD34 pre-procesamiento x 10 ⁶	4,0938	1,93353	8
CNT post-procesamiento x 10 ⁸	9,2314	4,29011	486
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	3,3402	3,14879	505
CD34%	0,3638	0,27764	478
Viabilidad en %	90,731	7,8007	478
BFU-E	62,7599	67,10681	437

VARIABLE	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
CFU-GM	53,1338	63,70072	437
CFU-GEMM	4,624	7,10407	437
Colonias	120,8945	127,67325	437

5.2. VARIABLES CUALITATIVAS

PARIDAD Y ABORTOS Tabla 3

VARIABLE	N	%
Partos previos 0 / \geq 1	420 / 274	60,5 / 39,5
Abortos previos 0 / \geq 1	584 / 108	84,4 / 15,6

PATOLOGÍA MATERNA Tabla 4

Tipo de patología	N = 694	%
Estados hipertensivos del embarazo	7	1
Oligoamnios	4	0,6
DMID	19	2,7
DMNID	6	0,9
Prematuridad	128	18,4
Gestación gemelar	7	1
Hipotiroidismo	14	2
LES	4	0,6
HTA	8	1,2
Sin patología	497	71,6

DURACIÓN DE LA GESTACIÓN Tabla 5

Semanas Gestacionales	N = 694	%
< 28	3	0,3
28 < 32	10	1,4
32 < 34	15	2,1
34 < 37	115	17
37 < 42	513	73,9
42	35	5

ANALGESIA DURANTE EL PARTO Tabla 6

Tipo de analgesia	N = 300	%
Mezcla Lítica	165	55
Epidural	93	31
No analgesia	42	14

FORMA DE TERMINACIÓN DE LA GESTACIÓN Tabla 7

Tipo de parto	N = 745	%
Cesárea	361	48,5
Vaginal espontáneo	288	38,7
Vaginal instrumentado	96	12,9

PESO DEL RECIÉN NACIDO EN FUNCIÓN DEL PERCENTIL Tabla 8

Variable	N = 678	%
PEG	19	2,8
AEG	599	88,4
GEG	60	8,8

Tabla 9

VARIABLE	N	%
Líquido amniótico claro / meconial	553 / 101	84,6 / 15,4
Sexo del RN varón / mujer	369 / 334	52,5 / 47,5
Tipo de extracción: inútero / exútero	345 / 391	46,9 / 53,1
Apgar 1 min <7 / ≥7	25 / 525	4,5 / 95,5
Apgar 5 min <7 / ≥7	3 / 553	0,6 / 99,4

VII. MÉTODO

1. RECOGIDA DE LAS DONACIONES DE SANGRE DE CORDÓN

Las donaciones de sangre de cordón se recogieron en el Hospital La Fe de Valencia, maternidad colaboradora del Banco de Sangre de Cordón Umbilical de la Comunidad Valenciana.

1.1 SELECCIÓN DE LAS DONACIONES

1.1.1 Donaciones rutinarias

La obtención de la SCU fue realizada en neonatos sanos a término, nacidos de partos vaginales y cesáreas. Los criterios generales de inclusión que el banco de sangre de cordón umbilical del Centro de Transfusión Sanguínea de la Comunidad Valenciana tiene establecidos son los siguientes:

- 1) Edad mayor de 18 años
- 2) Historia obstétrica normal
- 3) Historia clínica normal

Los criterios obstétricos de exclusión utilizados concuerdan con los de la mayoría de bancos en el mundo, y son los siguientes:

- 1) Antecedentes maternos y/o paternos de enfermedad genética conocida.
- 2) Enfermedad infecciosa transmisible materna: hepatitis B ó C (HbsAg, VHC-Ac), SIDA (VIH-1-Ac y VIH-2-Ac) ó sífilis (RPR). Tras valoración de la historia obstétrica, en el momento de la llegada a la maternidad, ésta se considere normal y los controles serológicos de rutina previos (HBsAg, HCV y HIV como mínimo), efectuados a la madre durante el embarazo, sean negativos.
- 3) Presencia de signos de infección en el neonato.
- 4) Fiebre materna > 38°C.

- 5) Recién nacido con algún tipo de malformación congénita.
- 6) Gestación < 34 semanas.
- 7) Rotura de saco amniótico > 24 horas.

Estos criterios se sintetizan en el anexo IV. En el anexo V se detallan las enfermedades maternas y paternas que contraindican la donación de sangre de cordón. Una vez comprobado que la madre/donante reunía todos los requisitos, fue requerida la firma del consentimiento informado para la donación voluntaria de SCU, antes de proceder a su obtención. Previamente se le había informado acerca de la donación de SCU.

Para recabar los datos acerca de los antecedentes maternos, se le entregó a la madre un cuestionario que debe contestar y firmar.

Toda la documentación relativa a la donación se identificó con etiquetas adhesivas en las que figuraban el nombre y apellidos de la madre, y datos de la historia clínica. Estas Donaciones servirán como grupo control.

1.1.2 Donaciones procedentes de patologías

Habitualmente las donaciones de sangre de cordón se recogen de donantes que no padezcan ninguna patología obstétrica o sistémica. Sin embargo, nos planteamos si las donaciones procedentes de patologías obstétricas y sistémicas frecuentes podrían cumplir los requisitos mínimos de celularidad para ser aceptados por el banco y ser útiles para trasplante. Por ello, se recogieron las unidades de sangre de cordón procedentes de donantes con las siguientes patologías:

- 1) DMID
- 2) DMNID
- 3) HTA
- 4) Preeclampsia
- 5) Hipotiroidismo en tratamiento sustitutivo con hormonas tiroideas
- 6) Otras enfermedades autoinmunes como LES

También se recogieron unidades de sangre de cordón con las siguientes características obstétricas:

- 1) Edad gestacional < 34 semanas
- 2) Rotura se saco amniótico > 24 horas
- 3) Gestación gemelar
- 4) Oligoamnios
- 5) Retraso de crecimiento intrauterino. Objetivación de RCIU en los que se haya cuantificado alteración hemodinámica, es decir, no ceñirnos al criterio ponderal (biometría con percentil < 10) únicamente, lo que representaría una hipoxia crónica.

Se definirá hipoxia mediante criterios analíticos y clínicos:

- Equilibrio ácido base con pH de arteria umbilical < 7.20 (hipoxia aguda).

1.2 RECOGIDA DE LA SANGRE DE CORDÓN

La recogida de la sangre de cordón se realizó inmediatamente después del nacimiento del bebé y del pinzamiento distal del cordón. Las bolsas se almacenaron en el paritorio a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Durante la recogida, se preservó siempre la esterilidad del sistema.

Se realizaron básicamente 2 tipos de extracción de la sangre de cordón: Antes de la expulsión de la placenta (recogida intraútero) y después de la expulsión de la misma (recogida exútero)

1.2.1 Recogida intraútero

Inmediatamente después del nacimiento, el cordón umbilical se pinzó a 3-5 cm del ombligo mediante pinzas de Kocher. Una vez seccionado, se esterilizó el cordón mediante lavado con alcohol al 70% y povidona yodada.

Seguidamente, se canuló la vena umbilical con la aguja de la bolsa de recogida, y se dejó fluir la sangre por gravedad hasta que cesara el flujo. Antes de retirar la aguja, se clampó el tubular con el objetivo de mantener el circuito de la bolsa cerrado. A continuación se protegió la aguja. La recogida se realizó en aproximadamente 2-3 minutos.

1.2.2 Recogida exútero

Tras el alumbramiento, la placenta se depositó en una bolsa estéril y se trasladó al lugar de recogida, al lado de los paritorios. La placenta se colocó en un soporte metálico con un agujero central por el que se introdujo el cordón. A continuación, se esterilizó el cordón y se canuló la vena umbilical con la aguja de la bolsa de recogida de igual forma como se ha descrito para la recogida intraútero.

1.2.3 Muestra de sangre materna

A las donantes de sangre de cordón se les extrajeron 2 tubos secos (suero) y un tubo con EDTA, que obligatoriamente debían adjuntarse a la unidad de sangre de cordón y su documentación correspondiente. Las muestras recogidas se utilizaron para:

- 1) 1 Tubo de suero: realización de las determinaciones serológicas obligatorias: VHC, VHB (HbsAg, HbcAc), VIH, sífilis
- 2) 1 Tubo de suero: almacenamiento de seroteca para futuras determinaciones
- 3) 1 Tubo de EDTA: almacenamiento de DNAteca para futuras determinaciones

Según el Real Decreto 411/1996, del 1 de marzo, los BSCU deberán disponer de bancos paralelos con muestras de control para la realización de análisis posteriores, si son requeridos, al menos durante 5 años contados a partir de la infusión de la sangre de cordón. Junto a ello, se deberá considerar el almacenamiento de DNA fetal.

- Seroteca materna y fetal.
- DNA-teca fetal.

1.2.4 Conservación de las unidades de SCU hasta el procesamiento

Las bolsas de SCU se almacenaron a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento dentro de las 48 horas desde la extracción, adjuntándose las hojas de recogida de datos del parto, el consentimiento informado y el cuestionario de autoexclusión. El transporte al Banco de Sangre de Cordón se realizó a temperatura ambiente. En el Banco, las unidades fueron procesadas inmediatamente o, se almacenaron a 4°C hasta el momento de su procesamiento.

1.3 PROCESAMIENTO DE LAS UNIDADES DE SANGRE DE CORDÓN

Durante el procesamiento de la SCU, todas las manipulaciones se realizaron en cabina de flujo laminar y se adoptaron medidas básicas de asepsia.

1.3.1 Identificación

Todo el material biológico y documental de cada donación de SCU se identificó de manera específica con un número de unidad compuesto por VLCC- y número consecutivo al último registro con 4 dígitos. La madre se identificó con la letra M- acompañada del mismo número asignado a la SCU. Esta identificación sirve para relacionar cada unidad de SCU con la madre y el recién nacido, las muestras piloto y toda la documentación recogida de datos y resultados analíticos.

1.3.2 Fraccionamiento de la SCU

Una vez pesada la bolsa y calculado el volumen de SCU, se extrajeron las muestras necesarias para realizar el recuento celular, el grupo ABO/Rh y tipaje HLA.

Se utilizaron indistintamente 2 sistemas de reducción de volumen de la SCU: sedimentación con HES y fraccionamiento top and bottom (arriba y abajo).

1.3.2.1 Reducción de volumen mediante sedimentación con Hidroxietil almidón (HES)

En cabina de flujo laminar y trabajando en condiciones de rigurosa asepsia, se añadió a la SCU con jeringa de 50 ml y aguja de 14G, un volumen de HES al 6% igual al volumen de la sangre de cordón dividido por cuatro, de manera que quede en una proporción 4:1 (SCU:HES) y a una concentración final de 1,2%. Seguidamente se homogeneizó el contenido de la bolsa y se centrifugó a 45g durante 7 minutos a una temperatura de 10°C (aceleración máxima-9 y freno mínimo-1). A continuación, se transfirió el plasma rico en leucocitos mediante un desplasmator manual, a una bolsa satélite llegando hasta la zona leucoplaquetar y dejando pasar 12 gramos de hematíes (controlado mediante balanza). Este sobrenadante se centrifugó a 600g durante 15 minutos a 10°C (aceleración máxima-9 y freno suave-3) y posteriormente se realizó otra desplasmatorización manual en la que se extrajo el excedente de plasma, dejando el pellet celular en un volumen de 41 ml, que se transfirió a la bolsa de congelación. Se tomó 1 ml para recuento celular y determinación de células CD34⁺.

1.3.2.2 Reducción de volumen mediante sistema arriba y abajo con Optipress II

La SCU se centrifugó a 3000g durante 12 minutos a una temperatura de 22°C (aceleración-9 y freno-5). A continuación se sacó la bolsa de la centrífuga con mucho cuidado para evitar que se altere la capa leucoplaquetar, y se colocó en los ganchos del fraccionador automático Optipress II. Después de pasar el tubular inferior de la bolsa por la pinza selladora inferior del aparato y el tubular superior por la pinza superior, se pulsó start para que empezara el programa. Cuando lo solicitó el programa, se abrieron las cánulas superior e inferior de la bolsa para que por la presión de la prensa, se separaran los

hematíes y el plasma, quedando en la bolsa original la capa leucoplaquetar que contiene las células precursoras hematopoyéticas. Después de homogeneizar las células, se ajustó el volumen con plasma hasta 41 ml que se transfirieron a la bolsa de congelación. Se extrajo 1 ml para el recuento celular y células CD34⁺.

1.3.3 Criopreservación de la SCU

Previamente se preparó la solución de congelación de la siguiente manera: en una bolsa de transferencia se añadieron 1 volumen de Dextrano 40 al 10% y 1 volumen de dimetilsulfóxido (DMSO). Esta solución se conservó en nevera a 4°C al menos media hora antes de su uso.

Para la criopreservación, se añadió manualmente con jeringa de 10 ml y durante 15 minutos, 10 ml de solución de congelación. Durante el proceso, la bolsa de SCU se mantuvo entre 2 unidades refrigerantes atemperadas a 4°C. Una vez introducida toda la solución, se tomaron 2 ml para repartir entre 3 criotubos piloto. A continuación se tomaron 19 ml de la SCU y se trasvasaron a otra bolsa de congelación de manera que una unidad de SCU se criopreservó en 2 fracciones, una que contiene el 60% de las células y otra que contiene el 40%. Las bolsas de congelación se colocaron en estuches metálicos y se introdujeron en el congelador programable para iniciar el proceso de congelación de manera controlada. El proceso de congelación fue realizado con un equipo de congelación programada Planer-Kryo 10, utilizando un programa específicamente diseñado para la congelación de precursores hematopoyéticos de SCU.

1.3.4 Almacenamiento de la SCU

Una vez finalizado el proceso de congelación, la SCU se almacenó en la fase de vapor de un tanque de nitrógeno líquido (temperatura -120°C), hasta su validación. El almacenamiento definitivo de las unidades se realizó en nitrógeno líquido (-196°C). Los criotubos piloto se almacenaron también en nitrógeno líquido.

1.4 CONTROLES BIOLÓGICOS

1.4.1 Recuento y viabilidad celular

La concentración de células nucleadas se determinó mediante un contador automático (ABX), cuyo correcto funcionamiento fue comprobado diariamente con controles analíticos comerciales. El número de células viables se determinó con el colorante vital naranja de acridina.

1.4.2 Determinación de las células CD34⁺ por citometría de flujo

El análisis fenotípico se realizó en las células de SCU después de la reducción de volumen. La expresión antigénica fue analizada sistemáticamente mediante combinaciones dobles de anticuerpos monoclonales directamente conjugados con fluorocromos. La adquisición de datos se realizó mediante el programa Cellquest (Becton Dickinson) en un citómetro de flujo FACScan (Becton Dickinson), equipado con un láser argón ajustado a 488 nm y 15 mW. Las células progenitoras hematopoyéticas se identificaron por la expresión del antígeno CD34.

1.4.3 Cultivos de progenitores hematopoyéticos

Los ensayos clonogénicos miden la funcionalidad *in vitro* de los progenitores hematopoyéticos CD34⁺. Se realizaron empleando un medio de cultivo comercial (Methocult H4434) que promueve la proliferación de células progenitoras hematopoyéticas de estirpe granulo/monocítica y eritrocítica. Las células fueron sembradas a una concentración de 2×10^4 /ml. Después de sedimentar el medio durante 15 minutos, se dispensaron 1 ml por duplicado en 2 placas de Petri de 35mm. Ambas placas se colocaron junto con una tercera conteniendo agua destilada estéril, en una placa Petri de 100mm. Las células se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ durante 14 días, al cabo de los cuales se contaron las colonias en un microscopio de luz invertida. Se consideraron CFU-GM las agrupaciones con > 40 células granulo/monocíticas, y BFU-E las agrupaciones con > 40 células eritrocíticas. Las colonias compuestas por

células pertenecientes a dos o más linajes fueron identificadas como CFU-GEMM.

1.4.4 Tipaje HLA clase I y II

Las unidades de SCU se tiparon para antígenos HLA A y B por serología (microlinfocitotoxicidad) y DRB1 por métodos de genética molecular (PCR-SSP). Se recomienda que el laboratorio de tipaje HLA esté acreditado por un sistema de acreditación externa internacional. Se Utilizaron 2 técnicas distintas:

- 1) Microlinfocitotoxicidad celular estándar, realizada sobre linfocitos totales en cinco placas diferentes: 2 placas con 58 anticuerpos policlonales cada una, incluyendo siempre en cada placa un control negativo y uno positivo; 3 placas comerciales con 70 anticuerpos monoclonales por placa.
- 2) PCR-SSP (sequence specific primer), basada en la amplificación específica de alelos o grupos de alelos en los loci HLA-A, -B, -C definidos por su secuencia.

1.4.5 Control de esterilidad

De cada unidad de sangre de cordón se tomó una muestra para control microbiológico. Para preservar el mayor número de células en la SCU, se tomaron 8 ml de los productos de desecho resultantes de la reducción de volumen de las unidades (4 ml de hematies y 4 ml de plasma). Las muestras se introdujeron en un frasco BacTAlert y se mantuvieron durante 14 días en estufa.

2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el procesamiento de datos del presente estudio, todos los casos han sido introducidos en una base de datos y tratados estadísticamente con el paquete estadístico SPSS versión 11 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL), el programa MED CALC y la hoja de cálculo elaborada por el Dr. J. Primo (Primo J, 2003)

A continuación se definen los métodos estadísticos aplicados en cada uno de los apartados del estudio.

2.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Se ha realizado una descripción estadística de algunas variables motivo de estudio, en las cuantitativas, su tendencia central y su dispersión, en tanto que en las variables categóricas se han utilizado números absolutos y porcentaje respecto al total.

2.2 ESTADÍSTICA ANALÍTICA

Para la comparación de variables cuantitativas normalmente distribuidas o con un número de casos superior a 30 hemos utilizado los tests de la “t” de Student. Cuando comparamos dos grupos y el análisis de la varianza (ANOVA), seguido, caso de ser significativo, de un test de rango múltiple (Student Newman Keuls), cuando se comparan más de dos grupos, eventualmente se establece un orden de potencia o magnitud. También se utilizó a posteriori, tras el ANOVA, el método de comparación de Dunnett, en el que un grupo asumido como control se compara al resto de los grupos.

Al analizar la influencia en la calidad de la SCU de los grupos con patología, nos ha parecido interesante, puesto que el número de casos limitado condiciona el poder estadístico, aplicar la prueba de la Mínima Diferencia Significativa en el caso de Diabetes Mellitus Insulino Dependientes y a un grupo de patología agrupable como vascular (DMID, LES, HTA), respecto del control (grupo sin patología).

Los grupos bien son cualitativos (sexo, vía de parto, aspecto del líquido amniótico..), o caso de cuantitativos se estratifican en dos o más grupos (Prematuridad mayor o menor de 34 semanas, clasificación del peso según percentil: pequeño, adecuado y grande para la edad..).

Para realizar el estudio de asociación entre variables aplicamos un análisis de regresión, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson (r), si variables continuas de distribución normal, transformadas logarítmicamente o coeficiente de Spearman (Rho) si no se puede asumir la normalidad o se trata de variables cualitativas.

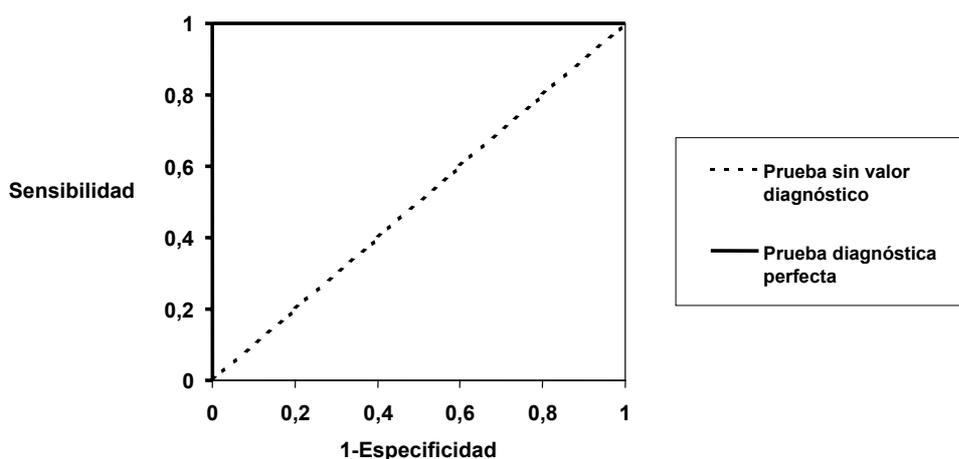
También se realizó un análisis de regresión lineal con la fórmula que define el fenómeno y permite predecir valores, esto lo realizamos de forma instrumental para objetivar el conocido fenómeno de la relación peso de la placenta y del recién nacido.

Puesto que al realizar análisis univariantes, algunas asociaciones pueden ser espúreas, hemos recurrido para conocer las verdaderamente relevantes a un análisis de regresión múltiple de pasos atrás, calculando la F , el coeficiente de determinación (R^2) y para cada variable relevante su coeficiente de correlación y la significación, así se pondera la importancia de las variables excluyendo aquellas cuya asociación se produjo por interacción.

Para buscar un punto de corte a partir de parámetros obstétricos (peso placentario y fetal) que optimice la recogida de Sangre de de cordón umbilical en términos de Celularidad Nucleada Total (CNT), confeccionamos una curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) o curva de rendimiento diagnóstico. En el eje de ordenadas aparece la sensibilidad y en el eje de abscisas el complementario de la especificidad. En la gráfica se representan todos los pares Sensibilidad/1-Especificidad correspondientes a los diferentes puntos de corte que ocupan todo el rango de los resultados observados.

El área bajo la curva ROC se define como la probabilidad de clasificar correctamente los datos. La prueba diagnóstica perfecta sería aquella que alcanzara una sensibilidad de 1 y una especificidad de 1. En este caso la curva ROC estaría representada por los lados izquierdo y superior del gráfico de la figura. El área bajo la curva sería igual a 1.

Una prueba sin valor diagnóstico sería aquella que presentara una sensibilidad de 0,5 y una especificidad de 0,5, es decir, sus resultados serían idénticos en sujetos sanos y enfermos. La curva ROC estaría representada por la diagonal principal del gráfico. En este caso el área bajo la curva sería igual a 0,5.



Representación gráfica de la curva ROC

La curva ROC proporciona una imagen gráfica que ayuda a escoger el punto de corte óptimo, que maximiza la suma de la sensibilidad y especificidad, minimizando los errores, que será el punto más cercano a la esquina superior izquierda del gráfico.

Posteriormente calculado el punto de corte para la discriminación de interés (es este caso CNT), con el número de casos por arriba y debajo de estos puntos se construyen tablas de contingencia 2 x 2. Calculamos la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) con sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%), asimismo se obtiene la razón de verosimilitud positiva (LR +) y negativa (LR -) con sus intervalos de confianza.

Consideramos la existencia de significación estadística la existencia de una probabilidad bilateral inferior a 0.05 ($p < 0.05$).

3. SEGUIMIENTO Y CONTROL POSTPARTO DE LA MADRE Y DEL RECIÉN NACIDO

En el momento actual debe decirse que es aconsejable (si bien no imprescindible) la realización de un seguimiento de la madre y del niño en algún momento después del parto, ante la posibilidad de existencia de enfermedades congénitas o infecciosas que no hubiesen sido detectadas en el momento de la recogida de la SCU. Esta valoración consistirá en:

- 1) Repetición de la serología materna a los 6 meses de la donación. El objetivo de esta segunda analítica es detectar aquellas donantes que se encontraran en el momento del parto, en un periodo ventana para alguna de las enfermedades transmisibles.
- 2) Valoración pediátrica a los 2 meses de la donación. El objetivo de esta valoración es detectar alguna enfermedad congénita grave que pudiera padecer el niño y que contraindicaría el uso clínico de la sangre de cordón almacenada en el banco. Habitualmente los pediatras de los centros de salud envían al banco un formulario en el que recogen el estado de salud del niño (Anexo VI).

Toda esta información se almacenará junto con los documentos recogidos en el momento de la donación y la hoja de procesamiento de las unidades.

4. CRITERIOS DE VALIDACIÓN DE LAS UNIDADES DE SANGRE DE CORDÓN

Las unidades de sangre de cordón que finalmente se validaron y se introdujeron los datos en el Registro Español de Donantes de médula ósea, cumplieron estos criterios:

- 1) Firma del consentimiento informado, formulario de autoexclusión y datos del parto debidamente cumplimentados.

- 2) Ausencia de alguno de los criterios de exclusión.
- 3) Procesamiento de la SCU sin incidencias. Recuperación de la celularidad nucleada total después de la reducción de volumen, mayor del 50%.
- 4) Viabilidad de la SCU mayor del 50%.
- 5) Serología materna negativa.
- 6) Realización de todas las analíticas: grupo ABO, cuantificación de progenitores hematopoyéticos, tipaje HLA y microbiología.
- 7) Muestras adecuadamente almacenadas.

Una vez validados, los datos de las unidades de sangre de cordón se introdujeron en el Registro español de donantes de médula ósea y sangre de cordón.

VIII. RESULTADOS

Hemos realizado un estudio entre los parámetros hematológicos que nos ayudan a definir, aunque de modo indirecto, la calidad de la sangre de cordón umbilical para trasplante de precursores hematopoyéticos y los diferentes factores que pensamos puede modificar la celularidad de esta sangre. Este estudio ha sido organizado en cuatro apartados que sistemáticamente desarrollaremos para cada parámetro. Los **parámetros hematológicos** que vamos a investigar como ya apuntamos en Material y Método, son los siguientes:

- Volumen de recogida de SCU en ml
- Contaje de células nucleadas totales pre-procesamiento x 10^8
- Contaje de células nucleadas totales post-procesamiento x 10^8
- Células CD34 post-procesamiento x 10^6
- Células CD34 en porcentaje
- Viabilidad en porcentaje
- Unidades formadoras de colonias eritroides
- Unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas
- Unidades formadoras de colonias mixtas
- Colonias

En primer lugar presentaremos los resultados del **análisis de correlaciones** entre los diferentes parámetros hematológicos entre si y con las siguientes **variables cuantitativas materno-fetales**, revisadas en nuestro estudio:

- Número de gestaciones previas
- Paridad
- Duración de la gestación en semanas
- Tiempo de rotura de membranas en horas
- Duración del parto en horas
- Peso del recién nacido en gramos

- Percentiles de peso del recién nacido
- Peso de la placenta en gramos
- pH arterial
- pH venoso
- PO₂
- PCO₂
- Log Apgar al minuto 1
- Log Apgar al minuto 5

De forma complementaria, nos proponemos analizar los diferentes parámetros hematológicos en función de las distintas **variables cualitativas maternas y fetales** incluidas en nuestro estudio de modo que podamos determinar qué factores afectan a la calidad de la sangre de cordón umbilical.

A continuación se exponen dichas variables materno-fetales:

- Sexo del recién nacido
 - Varón
 - Mujer
- Prematuridad, estableciendo el punto de corte en la semana 34
- Vía del parto
 - Vaginal
 - Abdominal
- Tipo de parto
 - Cesárea
 - Espontáneo
 - Instrumentado
- Clasificación según percentil:
 - PEG (menor del percentil 10)
 - AEG (entre percentil 10 y 90)
 - GEG (mayor que el percentil 90)
- Equilibrio ácido-base:
 - pH < 7,20
 - pH ≥ 7,20

- Aspecto de líquido amniótico
 - Claro
 - Meconial

En segundo lugar, tratando de clarificar nuestro segundo objetivo, **compararemos dos formas de recogida de las unidades de sangre de cordón** (con placenta intraútero y tras la expulsión de la misma) en los partos vaginales vs las cesáreas. Para ello hemos desarrollado el siguiente análisis para cada uno de los parámetros hematológicos estudiados:

Prueba de T para muestras independientes

- Totalidad de muestras recogidas intraútero/ exútero
- Muestras procedentes de partos vaginales intraútero/ exútero
- Muestras procedentes de cesáreas intraútero/ exútero

Este mismo análisis, lo realizaremos también para nuestro grupo control de gestaciones a término y sin patología.

Por último, para completar el estudio sobre el modo de recolección de la sangre de cordón, compararemos el tipo de recogida en función de la vía del parto.

En tercer lugar, nos proponemos analizar la **influencia de las diversas patologías materno-fetales en los parámetros hematológicos** que determinan la calidad de la sangre de cordón umbilical. Para ello contrastamos nuestro grupo control de pacientes sin patología con el resto de grupos que sí presentan patología ya sea materna o bien fetal: Estados hipertensivos del embarazo, oligoamnios, DMID, DMNID, Prematuridad, Gestación gemelar, Hipotiroidismo LES y HTA. Para llevarlo a cabo se utiliza un análisis de la varianza seguido de un Test de Dunnett ya que las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos. La diferencia entre las medias es significativa a nivel 0,05.

En cuarto lugar, y utilizando los parámetros que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un **análisis de**

regresión múltiple para ver cuáles son los factores que realmente influyen y discriminar éstos de los factores que enmascaran la verdadera relación, ya que pueden influirnos sobre otros y aparecer como falsamente asociados.

Eventualmente y para finalizar, realizaremos curvas ROC cuando proceda para optimizar la recogida de SCU y conseguir una mayor celularidad.

ANÁLISIS PORMENORIZADO DE CADA PARÁMETRO

1. VOLUMEN EN ML DE LA MUESTRA RECOGIDA.

Para dicho parámetro y tras la realización de un estudio de correlación, hemos encontrado una asociación significativa con los siguientes parámetros: Celularidad Nucleada Total pre y post-procesamiento x 10^8 , Celularidad CD34 post-procesamiento x 10^6 , las Unidades Formadoras de Colonias Eritroides, Unidades Formadoras de Colonias Granulocítico-Macrofágicas, Unidades Formadoras de Colonias Mixtas, Colonias totales, la duración de la gestación medida en semanas, el peso del recién nacido y los percentiles de peso del mismo, y el peso de la placenta. Es decir, que conseguimos un mayor volumen de recogida a mayor valor de los parámetros anteriormente mencionados, ya que se trata de una asociación positiva.

En la tabla presentada a continuación detallamos los valores obtenidos para cada parámetro estudiado con respecto del volumen de la muestra:

Tabla 1

Parámetro	r	p	n
CNT pre-procesamiento x 10^8	0,72	0.001	738
CNT post-procesamiento x 10^8	0,679	0.001	486
CD34 post-procesamiento x 10^6	0,406	0.001	505
BFU-E	0,335	0.001	437
CFU-GM	0,321	0.001	437

Parámetro	r	p	n
CFU-GEMM	0,249	0.001	437
Colonias	0,354	0.001	437
Duración de la gestación en semanas	0,296	0.001	686
Peso del recién nacido en gramos	0,418	0.001	687
Percentiles de peso	0,25	0.001	670
Peso de la placenta en gramos	0,464	0.001	678

En cambio no se ha observado una asociación significativa entre el volumen de sangre recogida medido en ml, y los siguientes parámetros:

- Células CD34 en %
- Viabilidad en %
- Número de gestaciones previas
- Paridad
- Tiempo de rotura de membranas en horas
- Duración del parto en horas
- pH arterial
- pH venoso
- PO₂
- PCO₂
- Log Apgar al minuto 1
- Log Apgar al minuto 5

Seguidamente se analiza la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales en el volumen en ml de la muestra de sangre de cordón umbilical recogida. Hemos observado que se obtienen mayores volúmenes de SCU en gestaciones de edad igual o mayor de 34 semanas y cuando la vía del parto es vaginal. No se observa diferencias en cuanto al sexo del recién nacido, el pH de arteria umbilical \geq o $<$ 7.20, ni en el aspecto del líquido amniótico. En la tabla 2 se muestran estos resultados:

Tabla 2

VARIABLE		Media \pm desv. típica n	p
Sexo	Varón	98,563 \pm 30,980 363	NS
	Mujer	96,534 \pm 32,643 331	
Prematuridad	EG \geq 34 semanas	99,097 \pm 31,032 659	0,001
	EG < 34 semanas	58,021 \pm 21,322 27	
Vía del parto	Vía Vaginal	103,608 \pm 30,947 380	0,001
	Cesárea	88,987 \pm 30,655 356	
pH de arteria umbilical	< 7,20	109,818 \pm 29,867 50	NS
	\geq 7,20	107,202 \pm 26,778 278	
Aspecto del Líquido Amniótico	Claro	97,087 \pm 31,278 546	NS
	Meconial	103,285 \pm 25,034 101	

Al constatar mayor volumen de recogida tras parto vaginal, quisimos explorar la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro del volumen de recogida de sangre de cordón umbilical medido en ml. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales e instrumentados. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 3

Tipo de parto	Media \pm desv. típica n
Cesárea	88,987 \pm 30,655 356
Espontáneo	101,570 \pm 31,773 285
Instrumentado	109,723 \pm 27,584 95

Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos una significación que da como resultado una **F=23,33**, y **p< 0,001**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observa que existen diferencias de las

tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto del volumen de la recogida de SCU en ml el siguiente orden de potencia; con significación estadística: ***Parto instrumentado > Parto espontáneo > Cesárea***

Por otra parte, si tomamos los pesos de los recién nacidos clasificados por percentiles: menor de 10, entre 10 y 90, y mayor de 90, constatamos que a mayor peso, se obtiene mayor volumen. En la siguiente tabla se muestran los valores de los volúmenes de recogida en función del peso estratificado en percentiles:

Tabla 4

Clasificación según percentil	Media ± desv. típica n
PEG	75,989 ± 31,747 20
AEG	96,537 ± 30,557 591
GEG	117,198 ± 35,242 59

En el análisis de la varianza practicado obtenemos una significación que da como resultado una **F=16,961**, y **p< 0,001**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observan que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto del volumen de la recogida de SCU en ml el siguiente orden de potencia; con significación estadística: ***GEG>AEG>PEG***

Respecto al tipo de extracción en la recogida de sangre de cordón, hemos observado que en general, se obtienen mayores volúmenes de SCU cuando la recogida se hace exútero. También sucede así para los partos mediante cesárea, en cambio en los partos vaginales no hallamos diferencias significativas. Estos resultados quedan reflejados en la tabla siguiente:

Tabla 5

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	P
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	94,435 \pm 34,594 384	0,031
	Ex útero	99,511 \pm 27,839 343	
Partos vaginales	In útero	101,732 \pm 34,073 213	NS
	Ex útero	106,001 \pm 26,337 167	
Cesáreas	In útero	85,189 \pm 32,447 168	0,013
	Ex útero	93,353 \pm 27,899 176	

Por el contrario, cuando analizamos el grupo control de gestaciones a término y sin patología, obtenemos que el tipo de recogida intrauterina en los partos vaginales, obtiene mayor volumen de sangre de cordón, siendo no significativas las diferencias halladas para las cesáreas o para todos los partos en su conjunto. La tabla siguiente muestra los resultados:

Tabla 6

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	100,348 \pm 31,121 207	NS
	Ex útero	103,787 \pm 25,986 278	
Partos vaginales	In útero	118,086 \pm 23,907 90	0,002
	Ex útero	107,652 \pm 25,014 152	
Cesáreas	In útero	113,112 \pm 22,904 45	NS
	Ex útero	108,274 \pm 23,562 85	

Completamos el estudio del modo de recolección de la SCU, comparando ambos tipos en función de la vía del parto, y hallamos para la forma de recogida intraútero se obtienen mejores resultados en cuanto a volumen de recogida en los partos vaginales:

Tabla 7

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	p
In útero	Parto vaginal	118,086 \pm 23,907 90	0,031
	Cesárea	113,112 \pm 22,904 45	
Ex útero	Parto vaginal	107,652 \pm 25,014 152	NS
	Cesárea	108,274 \pm 23,562 85	

Para valorar si la patología obstétrica influye en la calidad de la SCU, en este caso en el volumen de recogida, comparamos la normalidad frente a los casos con patología. Al realizar el análisis de la varianza, se obtiene una **F = 5,501** y una **p = 0,001**.

Tras realizar el Test de Dunnett bilateral se observa que no existen diferencias significativas entre el grupo control y el resto, excepto para la prematuridad (considerada como edad gestacional < 34 semanas) que proporciona un volumen menor.

Tabla 8

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n	Diferencia de medias	p
Sin patología	101,978 \pm 28,601 494		
Oligoamnios	108,150 \pm 36,463 4	6,172	NS
DMID	95,851 \pm 35,784 18	-6,127	NS
DMNID	84,067 \pm 20,918 6	-17,911	NS
Prematuridad	81,400 \pm 35,166 125	-20,578	0,001
Gestación gemelar	82,714 \pm 33,772 7	-19,264	NS
Hipotiroidismo	103,357 \pm 18,287 14	1,379	NS
LES	88,000 \pm 20,736 4	-13,978	NS
HTA	100,300 \pm 56,811 8	-1,678	NS
Estados hipertensivos del embarazo	86,461 \pm 65,134 7	-15,516	NS

Por último y utilizando los parámetros obstétricos que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados verdaderamente con el volumen de sangre de cordón recogido. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante del volumen de recogida de sangre de cordón:

Tabla 9

Parámetro	r	p
Duración de la gestación en semanas	0,296	0.001
Peso del recién nacido en gramos	0,418	0.001
Percentiles de peso	0,25	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,464	0.001
Tipo de recogida		0,031
Vía del parto		0,001

Análisis multivariante del volumen de recogida de sangre de cordón,
 $R^2=0,242$:

Tabla 10

Parámetro	Coficiente	p
Peso del recién nacido en gramos	0,199	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,339	0.001

2. CNT PRE-PROCESAMIENTO X 10⁸

Tras realizar un análisis de correlación entre el CNT pre-procesamiento y el resto de parámetros analizados en este trabajo, obtuvimos una asociación positiva, estadísticamente significativa con: el Volumen de recogida en ml, la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento, las células CD34 post-procesamiento y su %, las Unidades Formadoras de Colonias Eritroides, Granulocítico-Macrofágicas y Mixtas, las Colonias totales, la duración de la gestación en semanas, la duración del parto en horas, el peso del recién nacido y su percentil, y el peso de la placenta en gramos. Es decir, a mayor valor de estos parámetros, mayor será el conteo de Células Nucleadas Totales pre-procesamiento x 10⁸.

También pudimos constatar que se asocia negativamente con el pH arterial, de lo que se deduce que a pH más alcalino obtenemos menor número de células nucleadas totales pre-procesamiento. Estas asociaciones quedan reflejadas en la siguiente tabla:

Tabla 11

Parámetro	r	p	n
Volumen de recogida en ml	0,72	0.001	738
CNT post-procesamiento	0,913	0.001	486
CD34 post-procesamiento	0,607	0.001	505
CD34%	0,13	0,005	478
UFC eritroide	0,434	0.001	437
CFU-GM	0,417	0.001	437
CFU-GEMM	0,264	0.001	437
Colonias	0,454	0.001	437
Duración de la gestación en semanas	0,37	0.001	686
Duración del parto en horas	0,111	0,014	487
Peso del recién nacido en gramos	0,423	0.001	687

Parámetro	r	p	n
Percentil de peso	0,205	0.001	670
Peso de la placenta en gramos	0,411	0.001	678
pH arterial	-0,141	0,01	329

El resto de parámetros estudiados en donde no hallamos asociación significativa con el conteo de células nucleadas totales son:

Viabilidad en %,

CNT pre-procesamiento x 10⁸

Logaritmo del Apgar al 1 minuto

Logaritmo del Apgar al 5 minutos

pH venoso

PO₂

PCO₂

Tiempo de rotura de membranas

Número de gestaciones

Número de partos

Al analizar las variables cualitativas materno-fetales respecto a la celularidad nucleada total pre-procesamiento x 10⁸ de las muestras de sangre de cordón umbilical recogidas, podemos observar que el conteo es mayor cuando la

edad gestacional es ≥ 34 semanas, la vía del parto es vaginal, el pH de arteria umbilical es $< 7,20$ y el aspecto del líquido amniótico es meconial. No se observan diferencias en cuanto al sexo del recién nacido. En la siguiente tabla presentamos estos resultados:

Tabla 12

VARIABLE		Media \pm desv. típica n	p
Sexo	Varón	10,362 \pm 6,770 363	NS
	Mujer	10,050 \pm 5,542 331	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	10,445 \pm 6,105 659	0,001
	EG < 34 semanas	3,202 \pm 2,826 27	
Vía del parto	Vía Vaginal	11,119 \pm 5,660 380	0,001
	Cesárea	8,803 \pm 6,370 356	
pH de arteria umbilical	$< 7,20$	13,730 \pm 5,445 50	0,006
	$\geq 7,20$	11,562 \pm 5,016 278	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	9,744 \pm 5,999 546	0,001
	Meconial	12,737 \pm 5,216 101	

Al verificar que la vía vaginal es la que mayor conteo de células nucleadas totales pre-procesamiento $\times 10^8$ proporciona, nos propusimos explorar la importancia de la instrumentación vaginal en dicho parámetro. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e instrumentados. En la tabla siguiente mostramos los resultados:

Tabla 13

Tipo de parto	Media \pm desv. típica n
Cesárea	8,803 \pm 6,370 356
Espontáneo	10,759 \pm 5,802 285
Instrumentado	12,199 \pm 5,089 95

Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos una significación que da como resultado una **F=15,744**, y **p< 0,001**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observan que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto del CNT pre-procesamiento x 10⁸, de forma significativa, el siguiente orden de potencia: **Parto instrumentado > Parto espontáneo > Cesárea**

También analizamos la importancia del peso del recién nacido, agrupado según percentiles en PEG, AEG Y GEG. Se objetivó que a mayor percentil de peso, mayor es el contaje obtenido de células nucleadas totales pre-procesamiento x 10⁸.

Tabla 14

Clasificación según percentil	Media ± desv. típica n
PEG	7,384 ± 5,678 20
AEG	9,968 ± 6,077 592
GEG	13,720 ± 6,511 58

Se practicó un análisis de la varianza obteniendo una significación que da como resultado una **F=12,197**, y **p< 0,001**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observa que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto del CNT pre-procesamiento x 10⁸ el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG>AEG>PEG**

Cuando analizamos la influencia del tipo de extracción de sangre de cordón sobre la Celularidad Nucleada Total pre-procesamiento x 10⁸ de las muestras de sangre de cordón umbilical recogidas, podemos observar que el contaje es mayor cuando la recogida se realiza exútero para los partos vaginales, no hallándose diferencias si el parto es vía abdominal o en general en la globalidad de partos. En la tabla siguiente se detallan los resultados:

Tabla 15

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	P
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	9,643 \pm 7,008 384	NS
	Ex útero	10,475 \pm 4,960 343	
Partos vaginales	In útero	10,599 \pm 6,0284 213	0,036
	Ex útero	11,783 \pm 4,682 167	
Cesáreas	In útero	8,472 \pm 7,686 168	NS
	Ex útero	9,233 \pm 4,909 176	

Pero cuando analizamos únicamente el grupo control de gestaciones a término y sin patología, obtenemos lo contrario, en este caso la recogida intrauterina en los partos vaginales es significativamente superior en cuanto a la Celularidad Nucleada Total pre-procesamiento $\times 10^8$. La tabla siguiente muestra los resultados:

Tabla 16

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	11,118 \pm 7.465 207	NS
	Ex útero	11,282 \pm 4,827 278	
Partos vaginales	In útero	13,713 \pm 5,463 90	0,018
	Ex útero	12,133 \pm 4,707 152	
Cesáreas	In útero	13,150 \pm 5,297 45	NS
	Ex útero	12,314 \pm 4,288 85	

Comparando ambos tipos de recogida de sangre de cordón en función de la vía del parto, no hallamos diferencias significativas:

Tabla 17

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	p
In útero	Parto vaginal	13,713 \pm 5,463 90	NS
	Cesárea	13,150 \pm 5,297 45	
Ex útero	Parto vaginal	12,133 \pm 4,707 152	NS
	Cesárea	12,314 \pm 4,288 85	

Quisimos explorar la influencia de la patología obstétrica en el parámetro hematológico que nos atañe. Para ello comparamos nuestro grupo control de pacientes sin patología frente al resto. Realizado el análisis de la varianza, obtuvimos una **F= 7,625** y una **p= 0,001**. A continuación se practicó un Test de Dunnett bilateral en el que se encontró diferencias significativas únicamente entre el grupo control y el grupo de prematuros en el que se obtiene un menor contaje de células nucleadas totales. En la tabla siguiente presentamos los resultados: con una **Diferencia de medias = -4,750** y una **p=0,001**.

Tabla 18

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n	Diferencia de Medias	p
Sin patología	11,138 \pm 6,076 494		
Estados hipertensivos del embarazo	9,983 \pm 10,497 7	-1,155	NS
Oligoamnios	12,288 \pm 4,114 4	1,150	NS
DMID	10,172 \pm 7,783 18	-0,966	NS
DMNID	10,283 \pm 4,538 6	-0,855	NS
Prematuridad	6,388 \pm 4,345 125	-4,750	0,001
Gestación gemelar	6,606 \pm 4,851 7	-4,532	NS
Hipotiroidismo	11,405 \pm 6,194 14	0,267	NS
LES	8,013 \pm 3,821 4	-3,125	NS
HTA	10,403 \pm 9,202 8	-0,735	NS

Al considerar todos los factores obstétricos que tras el análisis univariante se asocian de forma significativa, para discriminar cuáles son los que realmente se asocian con la CNT pre-procesamiento x 10^8 hemos realizado un análisis multivariante.

Análisis univariante para la Celularidad Nucleada Total pre-procesamiento x 10^8 :

Tabla 19

Parámetro	r	p
Duración de la gestación en semanas	0,37	0.001
Duración del parto en horas	0,111	0,014
Peso del recién nacido en gramos	0,423	0.001
Percentil de peso	0,205	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,411	0.001
pH arterial	-0,141	0,01
Vía del parto		0,001

Análisis multivariante para la celularidad nucleada total pre-procesamiento x 10^8 , $R^2=0,179$:

Tabla 20

Parámetro	Coficiente	p
Edad gestacional en semanas	0,219	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,254	0.001
Duración del parto en horas	0,111	0.035
pH de arteria	-0,126	0.016
Vía del parto	-0,137	0.009

3. CNT POST-PROCESAMIENTO X 10⁸

Del mismo modo hemos procedido a analizar la asociación entre la Celularidad Nucleada Total tras el procesamiento habitual realizado en el banco de sangre de cordón y los diferentes parámetros hematológicos de la sangre de cordón umbilical. Encontramos que se asocia positivamente con el Volumen de la recogida de sangre de cordón, la Celularidad Nucleada Total pre-procesamiento, las células CD34 post-procesamiento, las Unidades Formadoras de Colonias Eritroides, de Colonias Granulocítico-Macrofágicas y de Colonias Mixtas, con el peso de la placenta en gramos, el peso del recién nacido en gramos y su percentil, la duración de la gestación en semanas y la duración del parto en horas. Cuanto mayor es el valor de estos parámetros, mayor es la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento x 10⁸.

Cabe destacar que se asoció de forma negativa tanto con el pH arterial como con el venoso, es decir, a valores de pH más elevados, obtenemos menor Celularidad Nucleada Total post-procesamiento.

Dichas asociaciones quedan reflejadas en la tabla siguiente:

Tabla 21

Parámetro	R	p	N
Volumen de recogida en ml	0,679	0.001	486
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,913	0.001	486
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	0,577	0.001	478
BFU-E	0,387	0.001	414
CFU-GM	0,383	0.001	414
CFU-GEMM	0,258	0.001	414
Colonias	0,413	0.001	414
Duración de la gestación en semanas	0,335	0.001	474
Duración del parto en horas	0,148	0,004	382

Parámetro	R	p	N
Peso del recién nacido en gramos	0,397	0.001	479
Percentil de peso	0,195	0.001	470
Peso de la placenta en gramos	0,34	0.001	470
pH arterial	-0,142	0,011	317
pH venoso	-0,114	0,049	300

No se halló ningún tipo de asociación estadísticamente significativa con los siguientes parámetros:

- CD34 en %
- Viabilidad en %
- Log Apgar al 1 min
- Log Apgar al 5 min
- PO2
- PCO2
- Tiempo de rotura de membranas
- Número de gestaciones
- Número de partos

A continuación se analiza la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales sobre la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento $\times 10^8$ de la muestra de sangre de cordón umbilical recogida. Como se muestra en la tabla siguiente, la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento es mayor si la edad gestacional es ≥ 34 semanas, el pH arterial de cordón umbilical es $< 7,20$, y el líquido amniótico es meconial. En cambio no afecta al conteo de células obtenido, el sexo del recién nacido, y la vía del parto.

Tabla 22

VARIABLE		Media \pm desv. típica n	p
Sexo	Varón	9,123 \pm 4,355 252	NS
	Mujer	9,322 \pm 4,250 230	
Prematuridad	EG \geq 34 semanas	9,382 \pm 4,219 461	0,001
	EG < 34 semanas	2,716 \pm 2,828 13	
Vía del parto	Vía Vaginal	9,142 \pm 4,293 319	NS
	Cesárea	9,392 \pm 4,303 166	
pH de arteria umbilical	< 7,20	10,524 \pm 4,167 49	0,014
	\geq 7,20	8,954 \pm 4,074 267	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	9,198 \pm 3,698 335	0,035
	Meconial	10,150 \pm 4,074 89	

Exploramos la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro del conteo de células nucleadas totales post-procesamiento $\times 10^8$. Con este propósito agrupamos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e instrumentados. Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos una significación que da como resultado una **F=0,851**, y **p=NS**.

En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 23

Tipo de parto	Media \pm desv. típica n
Cesárea	9,392 \pm 4,303 166
Espontáneo	8,968 \pm 4,389 229
Instrumentado	9,585 \pm 4,028 90

También quisimos explorar la posible influencia del peso del recién nacido sobre la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento, dividiéndolos según percentiles: <10, entre 10 y 90, y >90. Así se observó que el conteo era mayor cuando mayor era el percentil de peso. Estos resultados quedan reflejados en la tabla siguiente:

Tabla 24

Clasificación según percentil	Media \pm desv. típica n
PEG	9,106 \pm 4,733 9
AEG	9,905 \pm 4,206 414
GEG	11,750 \pm 4,674 47

En el análisis de la varianza practicado obtenemos una significación que da como resultado una **F=9,398**, y **p< 0,001**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observa que existen diferencias de las tres variables entre sí. Así, podemos establecer respecto del conteo de células nucleadas totales post-procesamiento $\times 10^8$ el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG>AEG>PEG**

En cuanto al tipo de extracción en la recogida de sangre de cordón, no hallamos diferencias significativas respecto a la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento $\times 10^8$ independientemente de la vía del parto. A continuación se detallan los resultados:

Tabla 25

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	9,628 \pm 5,077 225	NS
	Ex útero	8,865 \pm 3,453 258	
Partos vaginales	In útero	9,530 \pm 4,932 155	NS
	Ex útero	8,776 \pm 3,563 164	
Cesáreas	In útero	9,831 \pm 5,453 69	NS
	Ex útero	9,021 \pm 3,264 94	

Sin embargo cuando éste mismo análisis lo realizamos para el grupo control de gestaciones a término y sin patología, hallamos que la recogida intraútero es preferible a la exútero en cuanto a CNT post-procesamiento obtenido, independientemente de que el parto se desarrollara vía vaginal o por cesárea. En la tabla siguiente se reflejan estos resultados:

Tabla 26

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	10,553 \pm 4,319 135	0,001
	Ex útero	8,989 \pm 3,534 237	
Partos vaginales	In útero	10,566 \pm 4,497 90	0,002
	Ex útero	8,944 \pm 3,622 152	
Cesáreas	In útero	10,526 \pm 3,987 45	0,03
	Ex útero	9,068 \pm 3,390 85	

Para completar el estudio del modo de recolección de la SCU, comparamos ambos tipos en función de la vía del parto y en este caso no hallamos diferencias significativas como muestra la tabla siguiente:

Tabla 27

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	p
In útero	Parto vaginal	10,566 \pm 4,497 90	NS
	Cesárea	10,526 \pm 3,987 45	
Ex útero	Parto vaginal	8,944 \pm 3,622 152	NS
	Cesárea	9,068 \pm 3,390 85	

Analizamos la importancia de la patología obstétrica con respecto al contaje de células nucleadas totales post-procesamiento $\times 10^8$. Tras realizar un análisis de la varianza, obtuvimos una **F= 4,597** y una **p= 0,001**, seguidamente aplicamos un Test de Dunnett bilateral, comparando el grupo de gestantes sin

patología obstétrica con el resto que sí presentaban. Hallamos diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de prematuros con una **Diferencia de medias=- 2,881** con una **p=0,001** y también entre el grupo control y el grupo de estados hipertensivos del embarazo con una **Diferencia de medias= 7,178** con una **p= 0,006**. En la siguiente tabla se muestran estos resultados:

Tabla 28

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n	Diferencia de Medias	p
Sin patología	9,557 \pm 3,894 374		
Estados hipertensivos del embarazo	16,735 \pm 13,946 4	7,178	0,006
Oligoamnios	9,333 \pm 4,168 4	-0,225	NS
DMID	8,73 \pm 5,923 15	-0,827	NS
DMNID	8,954 \pm 4,060 5	-0,603	NS
Prematuridad	6,676 \pm 3,139 50	-2,881	0,001
Gestación gemelar	4,748 \pm 2,721 5	-4,809	NS
Hipotiroidismo	8,814 \pm 6,451 8	-0,743	NS
LES	7,12 \pm 3,723 3	-2,437	NS
HTA	10,28 \pm 8,499 6	-0,723	NS

Por último y utilizando los parámetros obstétricos que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento $\times 10^8$ y discriminar así cuáles enmascaran la verdadera relación. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para la CNT post-procesamiento $\times 10^8$:

Tabla 29

Parámetro	r	p
Edad gestacional en semanas	0,335	0.001
Duración del parto en horas	0,148	0,004
Peso del recién nacido en gramos	0,397	0.001
Percentil de peso	0,195	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,34	0.001
pH arterial	-0,142	0,011
pH venoso	-0,114	0,049
Aspecto del líquido amniótico		0,035

Análisis multivariante para la CNT post-procesamiento x 10⁸, **R²= 0,119**

Tabla 30

Parámetro	Coefficiente	p
Edad gestacional en semanas	0,194	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,227	0.001
pH arterial	-0,143	0.01

4. CD34 POST-PROCESAMIENTO X 10⁶

En primer lugar, analizamos la asociación estadística de dicho parámetro con el resto de factores que pueden influir en la calidad de la sangre de cordón. Observamos que se asocia positivamente con el Volumen de recogida de sangre, la Celularidad Nucleada Total tanto pre como post-procesamiento, el porcentaje de células CD34, las Unidades Formadoras de Colonias tipo Granulocítico-Macrofágicas y Mixtas, el número de Colonias totales, la duración del parto en horas, el peso del recién nacido y su percentil, y el peso de la placenta. Siendo ésta, una asociación positiva, encontramos que a mayor valor

de todos estos parámetros nombrados, mayor es la cantidad obtenida de células CD34 post-procesamiento x 10⁶.

Por el contrario se halló una asociación negativa con el logaritmo del Índice de Apgar al primer minuto y con el valor del pH arterial, así, cuando más altos son estos valores, menor es la cantidad de células CD34 post-procesamiento obtenida. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla siguiente:

Tabla 31

Parámetro	r	p	N
Volumen de recogida en ml	0,406	0.001	505
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,607	0.001	505
CNT post-procesamiento x 10 ⁸	0,577	0.001	478
CD34 %	0,701	0.001	478
CFU-GM	0,48	0.001	434
CFU-GEMM	0,373	0.001	434
Colonias	0,524	0.001	434
Duración del parto en horas	0,173	0,001	382
Peso del recién nacido en gramos	0,249	0.001	498
Percentil de peso	0,264	0.001	489
Peso de la placenta en gramos	0,26	0.001	488
Log Apgar minuto 1	-0,107	0,023	454
pH arterial	-0,124	0,025	326

A continuación detallamos la relación de parámetros con los que no se halló asociación entre éstos y las células CD34 post-procesamiento:

- Viabilidad en %
- Log Índice de Apgar al min 5
- pH venoso
- PO2

PCO2

Duración de la gestación en semanas

Tiempo de rotura de membranas

Número de gestaciones

Número de partos

En segundo lugar, analizamos la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales en la cantidad de células CD34 post-procesamiento x 10⁶ obtenida de las muestras de sangre de cordón umbilical recogidas. Hemos observado que se obtienen mayores cantidades de células CD34 cuando el producto de la gestación es un varón, la edad gestacional es ≥ 34 semanas y el pH de arteria umbilical es $< 7,20$. En cambio no se halló diferencias significativas en la vía del parto ni en el aspecto del líquido amniótico. A continuación mostramos los resultados:

Tabla 32

VARIABLE		Media \pm desv. típica n	p
Sexo	Varón	3,665 \pm 3,687 261	0,013
	Mujer	2,963 \pm 2,401 240	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	3,433 \pm 3,197 471	0,012
	EG < 34 semanas	1,689 \pm 2,090 22	
Vía del parto	Vía Vaginal	3,272 \pm 3,366 328	NS
	Cesárea	3,463 \pm 2,712 176	
pH de arteria umbilical	$< 7,20$	3,754 \pm 3,243 49	0,038
	$\geq 7,20$	2,882 \pm 2,589 276	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	3,302 \pm 2,863 330	NS
	Meconial	3,636 \pm 2,853 89	

También exploramos la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro del conteo de células CD34 post-procesamiento x 10⁶. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales e instrumentados. Tras

practicar un análisis de la varianza se obtiene una significación que da como resultado una **F=0,755**, y **p=NS**. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 33

Tipo de parto	Media ± desv. típica n
Cesárea	3,463 ± 2,712 176
Espontáneo	3,384 ± 3,587 238
Instrumentado	2,976 ± 2,692 90

Tomando los pesos de los recién nacidos, estratificados según percentil en PEG, AEG y GEG, obtenemos que a mayor peso, la celularidad CD34 post-procesamiento obtenida es mayor como se aprecia en la tabla siguiente.

Tabla 34

Clasificación según percentil	Media ± desv. típica n
PEG	2,144 ± 1,896 14
AEG	3,207 ± 2,903 428
GEG	4,956 ± 4,948 47

Realizamos un análisis de la varianza en el que obtenemos una significación que da como resultado una **F=7,605** y **p< 0,001**. A continuación aplicamos un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls, en el que se observa que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto del conteo de células CD34 post-procesamiento x 10⁶ el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG>AEG~PEG**

En cuanto a la influencia del tipo de extracción en la recogida de sangre de cordón, no hemos observado diferencias significativas en la cantidad de células CD34 x 10⁶ obtenidas post-procesamiento, independientemente de la vía del parto. En la tabla siguiente se aprecian los resultados:

Tabla 35

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	3,529 \pm 3,822 244	NS
	Ex útero	3,110 \pm 2,298 258	
Partos vaginales	In útero	3,559 \pm 4,045 164	NS
	Ex útero	2,986 \pm 2,492 164	
Cesáreas	In útero	3,459 \pm 3,363 79	NS
	Ex útero	3,328 \pm 1,908 94	

Cuando éste mismo análisis lo realizamos para nuestro grupo control de gestaciones a término y sin patología, obtenemos que el modo de recolección intraútero consigue de forma significativa mayor celularidad CD34 para los partos por cesárea. A continuación detallamos los resultados:

Tabla 36

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	3,63 \pm 3,604 135	NS
	Ex útero	3,068 \pm 2,306 237	
Partos vaginales	In útero	3,365 \pm 3,525 90	NS
	Ex útero	2,979 \pm 2,547 152	
Cesáreas	In útero	4,232 \pm 3,752 44	0,042
	Ex útero	3,227 \pm 1,802 85	

En el análisis del modo de recolección de la SCU, comparamos ambos tipos en función de la vía del parto y no hallamos diferencias significativas para las células CD34:

Tabla 37

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	P
In útero	Parto vaginal	3,365 \pm 3,525 90	NS
	Cesárea	4,232 \pm 3,752 44	
Ex útero	Parto vaginal	2,979 \pm 2,547 152	NS
	Cesárea	3,227 \pm 1,802 85	

En cuarto lugar, se exploró la influencia de la patología obstétrica en la cantidad obtenida de células CD34 post-procesamiento $\times 10^6$. Realizamos el análisis de la varianza y obtuvimos una **F= 0,739** y una **p= NS**. A continuación quedan reflejados los resultados obtenidos:

Tabla 38

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n
Sin patología	3,3 \pm 2,875 375
Estados hipertensivos del embarazo	3,209 \pm 4,342 7
Oligoamnios	1,757 \pm 2,146 3
DMID	4,633 \pm 7,464 18
DMNID	3,27 \pm 1,889 5
Prematuridad	3,333 \pm 2,892 55
Gestación gemelar	2,634 \pm 1,686 7
Hipotiroidismo	4,481 \pm 3,579 13
LES	1,928 \pm 1,458 4
HTA	3,595 \pm 3,628 8

Por último y realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver qué factores obstétricos están verdaderamente relacionados con la celularidad

CD34 post-procesamiento x 10⁶ de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para la celularidad CD34 post-procesamiento x 10⁶:

Tabla 39

Parámetro	r	P
Duración del parto en horas	0,173	0,001
Peso del recién nacido en gramos	0,249	0.001
Percentil de peso	0,264	0.001
Peso de la placenta en gramos	0,26	0.001
Apgar minuto 1 log	-0,107	0,023
pH arterial	-0,124	0,025
Sexo del recién nacido		0,013

Análisis multivariante para la celularidad CD34 post-procesamiento x 10⁶, **R²= 0,098**

Tabla 40

Parámetro	Coficiente	P
Peso de la placenta en gramos	0,243	0.001
Log del Apgar al 1 minuto	-0,157	0.005
Sexo del recién nacido	-0,125	0.024

5. CÉLULAS CD34 EN PORCENTAJE

En el análisis de correlaciones de dicho parámetro con el resto de variables estudiadas encontramos una asociación positiva con la celularidad nucleada total pre-procesamiento, las células CD34 post-procesamiento, las unidades formadoras de colonias eritroides, de colonias granulocítico-macrofágicas y mixtas, con el número de colonias, con la duración del parto en

horas, con el peso de la placenta en gramos y con el percentil del peso del recién nacido. Cuando mayor son los valores de estos parámetros, mayor es el porcentaje de células CD34 que podemos obtener.

Se observó una asociación negativa entre el porcentaje de células CD34 y la duración de la gestación en semanas, es decir, que obtenemos mayor porcentaje de células CD34 cuando menor es la edad gestacional. La tabla siguiente muestra estos resultados:

Tabla 41

Parámetro	r	p	N
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,130	0,005	478
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	0,701	0,001	478
BFU-E	0,308	0,001	412
CFU-GM	0,310	0,001	412
CFU-GEMM	0,285	0,001	412
Colonias	0,342	0,001	412
Duración de la gestación en semanas	-0,131	0,005	467
Duración del parto en horas	0,114	0,026	376
Percentil de peso	0,181	0,001	463
Peso de la placenta en gramos	0,112	0,016	462

A continuación detallamos la relación de parámetros con los que no se halló asociación entre éstos y las células CD34 en porcentaje:

- Volumen de la recogida en ml
- CNT post-procesamiento x 10⁸
- Viabilidad en %
- Número de gestaciones
- Número de partos
- Tiempo de rotura de membranas
- Peso del RN en gramos
- Log Índice de Apgar al 1 min

Log Índice de Apgar al 5 min

pH arterial

pH venoso

PO2

PCO2

A continuación nos proponemos analizar la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales en el porcentaje de células CD34 de las muestras de sangre de cordón umbilical recogidas. Observamos que no existen diferencias significativas, excepto para el sexo del recién nacido, en el que obtenemos un porcentaje de células mayor, si el producto de la gestación es un varón. En la tabla siguiente expresamos los resultados:

Tabla 42

VARIABLE		Media ± desv. típica n	p
Sexo	Varón	0,391 ± 0,270 249	0,020
	Mujer	0,332 ± 0,285 225	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	0,366 ± 0,282 455	NS
	EG < 34 semanas	0,363 ± 0,215 12	
Vía del parto	Vía Vaginal	0,348 ± 0,291 314	NS
	Cesárea	0,394 ± 0,249 163	
pH de arteria umbilical	< 7,20	0,344 ± 0,247 49	NS
	≥ 7,20	0,326 ± 0,206 267	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	0,355 ± 0,254 329	NS
	Meconial	0,353 ± 0,204 89	

Por otro lado, analizamos también la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro del conteo de células CD34 en porcentaje. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e

instrumentados. Tras practicar un análisis de la varianza obtuvimos una significación que da como resultado una **F=2,761**, y **p=0,064**.

En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 43

Tipo de parto	Media ± desv. típica n
Cesárea	0,394 ± 0,249 163
Espontáneo	0,364 ± 0,311 224
Instrumentado	0,309 ± 0,232 90

Observando con más detenimiento la tabla 23, llama la atención la diferencia de células CD34 en porcentaje entre las muestras procedentes de cesáreas y las de instrumentación vaginal. Realizando una prueba de T, obtenemos una **p<0,01** con una **Diferencia de medias= 0,085**, Intervalo de Confianza para la media del 95% (0,023 - 0,148).

Decidimos explorar la influencia del peso del recién nacido dividido según percentiles en PEG, AEG y GEG, con respecto al porcentaje de células CD34 obtenido en las diferentes muestras de sangre de cordón umbilical recogidas. En el análisis de la varianza practicado obtenemos como resultado una **F=0,814** y una **p no significativa**, así que consideramos que no existen diferencias en el porcentaje de células CD34 con respecto a la estratificación de los pesos de los recién nacidos. A continuación mostramos los resultados:

Tabla 44

Clasificación según percentil	Media ± desv. Típica N
PEG	0,272 ± 0,106 9
AEG	0,363 ± 0,286 407
GEG	0,397 ± 0,240 47

En cuanto a la influencia del tipo de extracción en la recogida de sangre de cordón, no hemos observado diferencias significativas en el porcentaje de

células CD34, independientemente de la vía del parto. La siguiente tabla, muestra los resultados:

Tabla 45

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	0,380 \pm 0,349 217	NS
	Ex útero	0,346 \pm 0,195 258	
Partos vaginales	In útero	0,367 \pm 0,364 150	NS
	Ex útero	0,331 \pm 0,201 164	
Cesáreas	In útero	0,411 \pm 0,315 66	NS
	Ex útero	0,372 \pm 0,181 94	

Hemos querido realizar este mismo análisis únicamente para el grupo control sin patología, de nuevo hemos obtenido diferencias no significativas como se aprecia en la tabla siguiente:

Tabla 46

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	0,341 \pm 0,286 134	NS
	Ex útero	0,334 \pm 0,184 237	
Partos vaginales	In útero	0,307 \pm 0,247 90	NS
	Ex útero	0,322 \pm 0,198 152	
Cesáreas	In útero	0,409 \pm 0,346 44	NS
	Ex útero	0,357 \pm 0,156 85	

Al comparar ambos modos de recolección de la SCU, en función de la vía del parto, tampoco se halló diferencias significativas para el porcentaje de Células CD34 obtenido. En la tabla siguiente se muestran los resultados:

Tabla 47

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	P
In útero	Parto vaginal	0,307 \pm 0,247 90	NS
	Cesárea	0,409 \pm 0,346 44	
Ex útero	Parto vaginal	0,322 \pm 0,198 152	NS
	Cesárea	0,357 \pm 0,156 85	

En cuanto a cómo influye la patología obstétrica en el porcentaje de células CD34 obtenido, realizamos un análisis de la varianza del que obtuvimos una **F= 4,382** y una **p= 0,001**. Tras realizar el Test de Dunnett bilateral se han encontrado diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de prematuros con una **Diferencia de medias= -0,157** y una **p= 0,002**, asimismo también existen diferencias significativas con el grupo de gestación gemelar con una **Diferencia de Medias= 0,553** y una **p= 0,001**.

Tabla 48

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n	Diferencia de Medias	P
Sin patología	0,340 \pm 0,229 373		
Estados hipertensivos del embarazo	0,367 \pm 0,239 4	0,027	NS
Oligoamnios	0,139 \pm 0,123 3	-0,201	NS
DMID	0,45 \pm 0,335 15	0,110	NS
DMNID	0,388 \pm 0,131 4	0,049	NS
Prematuridad	0,496 \pm 0,318 46	0,157	0,002
Gestación gemelar	0,892 \pm 1,251 5	0,553	0,001
Hipotiroidismo	0,463 \pm 0,357 8	0,123	NS
LES	0,22 \pm 0,121 3	-0,119	NS
HTA	0,467 \pm 0,297 6	0,127	NS

Por último, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con la celularidad CD34 en % x 10⁶ de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para la celularidad CD34 en % x 10⁶:

Tabla 49

Parámetro	r	P
Duración de la gestación en semanas	-0,131	0,005
Duración del parto en horas	0,114	0,026
Percentil de peso	0,181	0,001
Peso de la placenta en gramos	0,112	0,016
Sexo del recién nacido		0,02

Análisis multivariante para la celularidad CD34 en %, **R²= 0,068**

Tabla 50

Parámetro	Coefficiente	P
Peso de la placenta en gramos	0,179	0,001
Duración del parto en horas	0,118	0,021
Sexo del recién nacido	-0,109	0,033
Edad gestacional en semanas	-0,202	0,001

6. VIABILIDAD EN PORCENTAJE

En primer lugar, al estudiar la asociación de los diferentes parámetros que barajamos en nuestro estudio con la viabilidad en porcentaje hallamos que existe únicamente una asociación negativa de la viabilidad con la PO2 y con la duración de la gestación en semanas. Así, deducimos que a menor presión parcial de oxígeno en sangre de cordón umbilical o que a menor edad gestacional, la viabilidad de esa sangre de cordón, es mayor.

Tabla 51

Parámetro	R	P	N
PO2	-0,142	0,014	296
Duración de la gestación en semanas	-0,103	0,025	466

No se halló ningún tipo de asociación con el resto de parámetros estudiados y la viabilidad de la sangre de cordón en porcentaje.

En segundo lugar, se analiza la influencia de las diferentes variables cualitativas, materno-fetales en la viabilidad en porcentaje de la muestra de sangre de cordón umbilical recogida. Podemos observar que la viabilidad es mayor en las muestras de sangre procedentes de los prematuros por debajo de 34 semanas y en las muestras de los partos vía cesárea. En cambio, el sexo del recién nacido, el pH de arteria umbilical o el aspecto del líquido amniótico no tienen relevancia para la viabilidad en porcentaje. En la tabla siguiente mostramos los resultados:

Tabla 52

VARIABLE		Media ± desv. típica N	P
Sexo	Varón	90,402 ± 7,248 247	NS
	Mujer	91,061 ± 8,383 227	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	90,583 ± 7,743 453	0,012
	EG < 34 semanas	96,000 ± 4,103 13	
Vía del parto	Vía Vaginal	89,995 ± 8,565 314	0,005
	Cesárea	92,128 ± 5,862 163	
pH de arteria umbilical	< 7,20	90,250 ± 6,561 48	NS
	≥ 7,20	89,465 ± 8,711 264	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	90,315 ± 6,974 329	NS
	Meconial	89,497 ± 10,962 88	

Quisimos explorar más a fondo la importancia de la vía del parto en el parámetro de la viabilidad en porcentaje. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e instrumentados. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 53

Tipo de parto	Media \pm desv. típica N
Cesárea	92,128 \pm 5,862 163
Espontáneo	90,569 \pm 6,881 224
Instrumentado	88,565 \pm 11.682 90

Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos una significación que da como resultado una **F=6,253** y **p=0,002**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observan que existen diferencias entre los partos instrumentados y los espontáneos, cesáreas, siendo semejantes estos dos últimos: **Cesárea \approx Parto espontáneo > Parto instrumentado**

Quisimos saber la relevancia del peso del recién nacido agrupado por percentiles en PEG, AEG y GEG, con respecto a la viabilidad en porcentaje de la sangre de cordón umbilical. Aplicamos un análisis de la varianza del que obtuvimos una **F= 0,4** y una **p no significativa**.

Tabla 54

Clasificación según percentil	Media \pm desv. Típica N
PEG	93 \pm 3,386 8
AEG	90,674 \pm 7,876 407
GEG	90,360 \pm 6,920 47

En cuanto al estudio del modo de recolección de la sangre de cordón umbilical y a su influencia en la viabilidad celular, podemos observar que la viabilidad, de forma significativa, es mayor en las muestras de sangre recogidas intraútero tanto para los partos vaginales, como para las cesáreas. La tabla siguiente muestra los resultados:

Tabla 55

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	91,904 \pm 6,217 221	0,002
	Ex útero	89,647 \pm 8,849 254	
Partos vaginales	In útero	90,999 \pm 6,687 153	0,043
	Ex útero	89,04 \pm 9,957 69	
Cesáreas	In útero	93,939 \pm 4,436 67	0,001
	Ex útero	90,698 \pm 6,417 93	

Cuando éste mismo análisis lo realizamos para nuestro grupo control de gestaciones a término y sin patología, únicamente hallamos diferencias significativas en cuanto a la viabilidad celular en las cesáreas, y de nuevo a favor de la recogida intraútero.

Tabla 56

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	90,630 \pm 6,128 133	NS
	Ex útero	89,627 \pm 8,834 233	
Partos vaginales	In útero	89,313 \pm 6,491 89	NS
	Ex útero	88,981 \pm 10,209 149	
Cesáreas	In útero	93,293 \pm 4,265 44	0,009
	Ex útero	90,773 \pm 5,497 84	

Para completar el estudio del modo de recolección de la SCU, comparamos ambos tipos en función de la vía del parto y de nuevo corroboramos que la recogida intraútero es claramente superior en los partos vía cesárea:

Tabla 57

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	P
In útero	Parto vaginal	89,313 \pm 6,491 89	0,001
	Cesárea	93,293 \pm 4,265 44	
Ex útero	Parto vaginal	88,981 \pm 10,209 149	NS
	Cesárea	90,773 \pm 5,497 84	

También decidimos explorar la influencia que pueda tener la patología obstétrica sobre la viabilidad en porcentaje de la sangre de cordón umbilical. Así, realizamos un análisis de la varianza que nos dio como resultado una **F=2,278** y una **p=0,017**, seguidamente aplicamos un test de Dunnet bilateral en el que enfrentamos el grupo control a los diferentes grupos con patología obstétrica, y no se han encontrado diferencias significativas frente a ninguno de ellos. A continuación podemos observar los resultados en la tabla siguiente:

Tabla 58

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n	Diferencia de medias	P
Sin patología	90,035 \pm 7,964 368		
Estados hipertensivos del embarazo	95,5 \pm 4,796 4	5,465	NS
Oligoamnios	93,25 \pm 4,349 4	3,215	NS
DMID	94,429 \pm 5,840 14	4,394	NS
DMNID	92,8 \pm 4,494 5	2,765	NS
Prematuridad	92,09 \pm 6,715 49	2,055	NS
Gestación gemelar	96,8 \pm 1,789 5	6,765	NS
Hipotiroidismo	93,375 \pm 5,208 8	3,340	NS
LES	98 \pm 1,732 3	7,965	NS
HTA	96,333 \pm 3,445 6	6,298	NS

Por último y utilizando los parámetros obstétricos que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con la Viabilidad Celular en porcentaje de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para la viabilidad celular en %:

Tabla 59

Parámetro	r	P
PO2	-0,142	0,014
Duración de la gestación en semanas	-0,103	0,025
Tipo de recogida		0,002
Vía del parto		0,005

Análisis multivariante para la viabilidad celular en %, $R^2 = 0,017$

Tabla 60

Parámetro	Coefficiente	P
PO2	-0,142	0,014

7. UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS ERITROIDES

Hemos estudiado las asociaciones existentes entre las BFU-E y los diferentes parámetros de nuestro trabajo. Así, hemos hallado una asociación positiva con el volumen de la recogida en ml, el conteo de células nucleadas totales pre y post-procesamiento, las células CD34 post-procesamiento, el porcentaje de células CD34, las unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas y mixtas, con el número de colonias, con la duración de la gestación en semanas, el peso del RN en gramos y el peso de la placenta. De donde se deduce que a mayor valor de estos parámetros, encontraremos un número mayor de unidades formadoras de colonias eritroides en la muestra de sangre de cordón.

Se observó una asociación negativa entre las unidades formadoras de colonias eritroides y el logaritmo del Apgar al primer minuto. Estos datos se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 61

Parámetro	R	p	N
Volumen de recogida en ml	0,335	0,001	437
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,434	0,001	437
CNT post-procesamiento x 10 ⁸	0,387	0,001	414
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	0,487	0,001	434
CD34 %	0,308	0,001	412
CFU-GM	0,798	0,001	437
CFU-GEMM	0,368	0,001	437
Colonias	0,944	0,001	437
Duración de la gestación en semanas	0,141	0,004	427
Peso del RN en gramos	0,145	0,002	432
Peso de la placenta en gramos	0,199	0,001	424
Logaritmo de Apgar al 1 minuto	-0,108	0,032	393

No hallamos ningún tipo de asociación entre las BFU-E y los siguientes parámetros:

- Viabilidad %
- Número de gestaciones
- Número de partos
- Tiempo de rotura de membranas
- Duración del parto en horas
- Percentil de peso del RN
- pH arterial
- pH venoso
- PO2

PCO2

Log Apgar al 5 minuto

En este apartado se analiza la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales sobre las unidades formadoras de colonias eritroides de la sangre de cordón umbilical recogida. El análisis nos muestra que se obtiene un mayor número de BFU-E si el producto de la gestación es un varón y si la edad gestacional es ≥ 34 semanas. La vía del parto, el pH de arteria umbilical y el aspecto del líquido amniótico no influyen. A continuación mostramos los resultados:

Tabla 62

VARIABLE		Media \pm desv. típica N	p
Sexo	Varón	70,073 \pm 76,518 226	0,019
	Mujer	54,933 \pm 54,964 208	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	64,780 \pm 68,357 411	0,007
	EG < 34 semanas	18,181 \pm 15,670 16	
Vía del parto	Vía Vaginal	63,751 \pm 69,800 296	NS
	Cesárea	60,721 \pm 61,472 140	
pH de arteria umbilical	< 7,20	73,259 \pm 75,383 46	NS
	$\geq 7,20$	62,698 \pm 68,910 245	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	67,851 \pm 69,843 302	NS
	Meconial	69,036 \pm 64,125 77	

Analizamos si la instrumentación vaginal influía en el parámetro de las BFU-E. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos y instrumentados. Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos una $F=0,4$ y $p=NS$. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 63

Tipo de parto	Media \pm desv. típica N
Cesárea	60,721 \pm 61,472 140
Espontáneo	61,833 \pm 68,726 212
Instrumentado	68,592 \pm 72,635 84

Por otro lado quisimos valorar si el peso del recién nacido influía en el número de unidades formadoras de colonias eritroides que se puede obtener de una muestra de sangre de cordón. Con este propósito agrupamos los pesos según percentiles en PEG, AEG y GEG. En el análisis de la varianza practicado obtenemos una significación que da como resultado una **F=4,117** y **p=0,017**. A continuación presentamos los resultados:

Tabla 64

Clasificación según percentil	Media \pm desv. Típica N
PEG	50,192 \pm 65,777 14
AEG	60,446 \pm 64,533 368
GEG	90,929 \pm 89,721 42

Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observan que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto de las unidades formadoras de colonias eritroides ml el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG>PEG**, sin embargo el numero de unidades formadoras de colonias en los fetos AEG no fue diferente de las producidas en los fetos grandes o pequeños.

En cuanto a la influencia del tipo de recogida de sangre de cordón en el Número de Unidades Formadoras de Colonias Eritroides, observamos que sólo existen diferencias significativas para la extracción exútero en las cesáreas. En la tabla siguiente se muestran los resultados:

Tabla 65

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	P
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	58,345 \pm 69,809 192	NS
	Ex útero	66,472 \pm 65,205 242	
Partos vaginales	In útero	63,994 \pm 74,992 135	NS
	Ex útero	63,548 \pm 65,367 161	
Cesáreas	In útero	44,791 \pm 54,372 56	0,01
	Ex útero	72,285 \pm 64,894 81	

Por el contrario si el mismo análisis lo realizamos en el grupo control de gestaciones a término y sin patología, no hallamos ninguna diferencia significativa:

Tabla 66

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	71,611 \pm 78,687 112	NS
	Ex útero	66,143 \pm 65,738 224	
Partos vaginales	In útero	75,663 \pm 84,175 79	NS
	Ex útero	62,509 \pm 65,172 149	
Cesáreas	In útero	63,533 \pm 64,114 32	NS
	Ex útero	73,361 \pm 66,699 75	

Del mismo modo comparamos el tipo de recolección de la SCU, en función de la vía del parto y tampoco hallamos diferencias significativas para la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias obtenida:

Tabla 67

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	p
In útero	Parto vaginal	75,663 \pm 84,175 79	NS
	Cesárea	63,533 \pm 64,114 32	
Ex útero	Parto vaginal	62,509 \pm 65,172 149	NS
	Cesárea	73,361 \pm 66,699 75	

También analizamos la posible influencia de la patología obstétrica en el parámetro hematológico que nos atañe. Así, practicamos un análisis de la varianza en el que obtuvimos una **F= 1,872** y una **p no significativa**. En la tabla siguiente se muestran los resultados:

Tabla 68

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n
Sin patología	67,825 \pm 70,065 338
Estados hipertensivos del embarazo	44,829 \pm 69,659 7
Oligoamnios	155,8 1
DMID	23,25 \pm 26,89 11
DMNID	57,403 \pm 96,746 4
Prematuridad	58,983 \pm 57,805 45
Gestación gemelar	13,14 \pm 8,75 5
Hipotiroidismo	27,329 \pm 30,685 7
LES	16,003 \pm 9,152 4
HTA	21,74 \pm 22,409 5

Por último y utilizando los parámetros obstétricos que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con el número de

Unidades Formadoras de Colonias Eritroides de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para el número de unidades formadoras de colonias eritroides:

Tabla 69

Parámetro	r	P
Duración de la gestación en semanas	0,141	0,004
Peso del RN en gramos	0,145	0,002
Peso de la placenta en gramos	0,199	0,001
Logaritmo de Apgar al 1 minuto	-0,108	0,032
Sexo del recién nacido		0,019

Análisis multivariante para el número de unidades formadoras de colonias eritroides, $R^2= 0,071$

Tabla 70

Parámetro	Coficiente	P
Peso de la placenta en gramos	0,174	0,001
Logaritmo de Apgar al 1 minuto	-0,107	0,034
Sexo del recién nacido	-0,114	0,024
Edad gestacional en semanas	0,097	0,076

8. UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS GRANULOCÍTICO-MACROFÁGICAS

En el análisis de correlaciones de las CFU-GM con los diferentes parámetros hallamos una asociación positiva con el volumen de la recogida en ml, el conteo de CNT pre y post-procesamiento, las células CD34 post-

procesamiento, las células CD34 %, las BFU-E y mixtas, el número de colonias, la duración de la gestación en semanas, el peso del RN y su percentil, y el peso de la placenta en gramos. Es decir, a mayor valor de estos parámetros podemos obtener mayor número de unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas en sangre de cordón umbilical. A continuación se reflejan estos datos pormenorizados en la tabla siguiente:

Tabla 71

Parámetro	r	p	N
Volumen de recogida en ml	0,321	0,001	437
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,417	0,001	437
CNT post-procesamiento x 10 ⁸	0,383	0,001	414
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	0,480	0,001	434
CD34 %	0,310	0,001	412
BFU-E	0,798	0,001	437
CFU-GEMM	0,483	0,001	437
Colonias	0,949	0,001	437
Duración de la gestación en semanas	0,120	0,013	427
Peso del RN en gramos	0,138	0,004	432
Percentil de peso del RN	0,105	0,030	424
Peso de la placenta en gramos	0,228	0,001	424

No se observó ningún tipo de asociación entre las unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas y los siguientes parámetros:

- Viabilidad %
- Número de gestaciones
- Número de partos
- Tiempo de rotura de membranas
- Duración del parto en horas
- pH arterial
- pH venoso

PO2
 PCO2
 Log Apgar a 1 minuto
 Log Apgar al 5 minuto

A continuación, se analiza la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales en las unidades formadoras de colonias tipo granulocítico-macrofágicas de la muestra de sangre de cordón umbilical recogida. En la tabla siguiente podemos observar que únicamente en las muestras procedentes de gestaciones con una edad ≥ 34 semanas podemos obtener un mayor número de CFU-GM:

Tabla 72

VARIABLE		Media \pm desv. típica N	p
Sexo	Varón	56,293 \pm 68,227 226	NS
	Mujer	49,887 \pm 58,815 208	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	55,199 \pm 64,801 411	0,004
	EG < 34 semanas	7,991 \pm 8,447 16	
Vía del parto	Vía Vaginal	52,680 \pm 61,633 296	NS
	Cesárea	54,178 \pm 68,291 140	
pH de arteria umbilical	< 7,20	60,305 \pm 57,103 46	NS
	$\geq 7,20$	54,757 \pm 66,525 245	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	59,563 \pm 68,135 302	NS
	Meconial	57,147 \pm 55,246 77	

Quisimos explorar la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro de las CFU-GM. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e instrumentados. Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos como resultado una **F=0,111**, y **p=NS**. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 73

Tipo de parto	Media \pm desv. típica N
Cesárea	54,178 \pm 68,291 140
Espontáneo	51,717 \pm 61,840 212
Instrumentado	55,110 \pm 61,409 84

Exploramos la posible influencia del peso del recién nacido en el número de unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas, dividiéndolos según percentiles: <10, entre 10 y 90, y >90. Así se observó que el conteo era mayor cuando mayor era el percentil de peso. Estos resultados quedan reflejados en la tabla siguiente:

Tabla 74

Clasificación según percentil	Media \pm desv. Típica N
PEG	42,155 \pm 48,638 14
AEG	50,681 \pm 60,325 368
GEG	80,186 \pm 91,967 42

En el análisis de la varianza practicado obtenemos una significación que da como resultado una **F=4,254** y **p=0,015**. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observa que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto de las unidades formadoras de colonias tipo Granulocítico-Macrofágicas, el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG>PEG**, sin embargo el número de unidades formadoras de colonias en los fetos AEG no fue diferente de las producidas en los fetos grandes o pequeños.

A continuación evaluamos si el modo de recogida de sangre de cordón influye en el número de CFU-GM obtenido. Así, en la tabla siguiente se observa que de manera significativa, se consiguen más unidades de Unidades

Formadoras de Colonias Granulocítica-Macrofágica en el modo de recolección exútero, en los partos vía cesárea.

Tabla 75

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media ± desv. típica n	P
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	46,674 ± 63,467 192	NS
	Ex útero	58,412 ± 63,890 242	
Partos vaginales	In útero	52,138 ± 64,270 135	NS
	Ex útero	63,548 ± 65,367 161	
Cesáreas	In útero	33,598 ± 60,636 56	0,003
	Ex útero	68,902 ± 71,004 81	

Pero si este mismo análisis lo realizamos para nuestro grupo control de gestaciones a término y sin patología, obtenemos que las diferencias no son significativas para ningún tipo de extracción:

Tabla 76

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media ± desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	59,859 ± 71,041 112	NS
	Ex útero	58,028 ± 64,602 224	
Partos vaginales	In útero	64,817 ± 69,294 79	NS
	Ex útero	52,592 ± 60,279 149	
Cesáreas	In útero	49,441 ± 75,531 32	NS
	Ex útero	68,826 ± 71,639 75	

Los mismos resultados obtenemos si estudiamos el modo de recolección de la SCU y comparamos ambos tipos en función de la vía del parto:

Tabla 77

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	p
In útero	Parto vaginal	64,817 \pm 69,294 79	NS
	Cesárea	49,441 \pm 75,531 32	
Ex útero	Parto vaginal	52,592 \pm 60,279 149	NS
	Cesárea	68,826 \pm 71,639 75	

A continuación, analizamos la importancia de la patología obstétrica con respecto al número de Unidades Formadoras de Colonias Granulocítico-Macrofágicas. Tras realizar un análisis de la varianza, obtuvimos una **F= 2,156** y una **p= 0,024**, seguidamente aplicamos un Test de Dunnett bilateral, comparando el grupo de gestantes sin patología obstétrica con el resto que sí presentaban. Si bien el análisis de la varianza fue significativo, el Test de Dunnett no lo es debido al escaso poder por el bajo número de casos en algunos grupos. A continuación mostramos los resultados:

Tabla 78

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n
Sin patología	58,461 \pm 66,559 338
Estados hipertensivos del embarazo	21,093 \pm 39,321 7
Oligoamnios	101,27 1
DMID	12,016 \pm 17,272 11
DMNID	36,61 \pm 62,794 4
Prematuridad	52,317 \pm 59,743 45
Gestación gemelar	5,48 \pm 4,778 5
Hipotiroidismo	11,564 \pm 13,277 7
LES	7,675 \pm 6,707 4
HTA	14,26 \pm 18,354 5

Por último y utilizando los parámetros que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con el número de Unidades Formadoras de Colonias Granulocítico-Macrofágicas de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para el número de Unidades Formadoras de Colonias Granulocítico-Macrofágicas:

Tabla 79

Parámetro	r	P
Duración de la gestación en semanas	0,120	0,013
Peso del RN en gramos	0,138	0,004
Percentil de peso del RN	0,105	0,030
Peso de la placenta en gramos	0,228	0,001

Análisis multivariante para número de Unidades Formadoras de Colonias Granulocítico-Macrofágicas, $R^2 = 0,052$

Tabla 80

Parámetro	Coefficiente	P
Peso de la placenta en gramos	0,233	0,001

9. UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS MIXTAS

Al analizar las correlaciones de dicho parámetro con el resto de factores que pueden influir en la calidad de la sangre de cordón, observamos que se asocia positivamente con el volumen de recogida de sangre en ml, el conteo de células nucleadas totales tanto pre como post-procesamiento, las células CD34 post-procesamiento, el porcentaje de células CD34, las unidades formadoras de colonias tipo eritroides y granulocítico-macrofágicas, el número

de colonias, la duración del parto en horas, el peso del recién nacido y su percentil, y el peso de la placenta. De donde se deduce que a mayor valor de todos estos parámetros obtenemos un mayor número de Unidades Formadoras de Colonias Mixtas en sangre de cordón.

También se halló una asociación negativa con el logaritmo del Índice de Apgar al primer minuto. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla siguiente:

Tabla 81

Parámetro	r	P	N
Volumen de recogida en ml	0,249	0,001	437
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,284	0,001	437
CNT post-procesamiento x 10 ⁸	0,258	0,001	414
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	0,373	0,001	434
CD34 %	0,285	0,001	412
BFU-E	0,368	0,001	437
CFU-GM	0,483	0,001	437
Colonias	0,491	0,001	437
Duración del parto en horas	0,115	0,034	341
Peso del RN en gramos	0,151	0,002	432
Percentil de peso del RN	0,150	0,002	424
Peso de la placenta en gramos	0,186	0,001	424
Log Apgar al 1 minuto	-0,144	0,004	393

No se observó ningún tipo de asociación entre las Unidades Formadoras de Colonias Mixtas y los siguientes parámetros:

- Viabilidad %
- Número de gestaciones
- Número de partos
- Tiempo de rotura de membranas

Duración de la gestación en semanas
 pH arterial
 pH venoso
 PO2
 PCO2
 Log Apgar al 5 minuto

Se pretende analizar la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales en el parámetro de las unidades formadoras de colonias mixtas de la muestra de sangre de cordón umbilical recogida. Observamos que se obtiene mayor número de CFU-GEMM únicamente si la muestra procede de gestaciones ≥ 34 semanas, ya que las diferencias encontradas en el resto de variables no son significativas. En la tabla siguiente quedan reflejados estos resultados:

Tabla 82

VARIABLE		Media \pm desv. típica N	P
Sexo	Varón	5,042 \pm 8,123 226	NS
	Mujer	4,153 \pm 5,810 208	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	4,768 \pm 7,214 411	0,030
	EG < 34 semanas	0,833 \pm 1,004 16	
Vía del parto	Vía Vaginal	4,522 \pm 6,924 296	NS
	Cesárea	4,858 \pm 7,512 140	
pH de arteria umbilical	$< 7,20$	4,126 \pm 4,503 46	NS
	$\geq 7,20$	4,424 \pm 7,169 245	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	5,148 \pm 7,640 302	NS
	Meconial	4,832 \pm 6,488 77	

Quisimos explorar la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro de las CFU-GEMM. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e instrumentados. Tras practicar un análisis de la

varianza obtenemos una significación que da como resultado una $F=0,162$, y $p=NS$. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 83

Tipo de parto	Media \pm desv. típica N
Cesárea	4,858 \pm 7,512 140
Espontáneo	4,435 \pm 7,428 212
Instrumentado	4,743 \pm 5,482 84

También analizamos la importancia del peso del recién nacido, agrupado según percentiles en PEG, AEG Y GEG. Se objetivó que a mayor percentil de peso, mayor es el número de Unidades Formadoras de Colonias Mixtas obtenido. Estos resultados se reflejan en la tabla siguiente:

Tabla 84

Clasificación según percentil	Media \pm desv. Típica N
PEG	2,943 \pm 4,276 14
AEG	4,377 \pm 6,658 368
GEG	7,435 \pm 10,682 42

En el análisis de la varianza practicado obtenemos una significación que da como resultado una $F=3,912$ y $p=0,021$. Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observan que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto de las unidades formadoras de colonias mixtas el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG>PEG**, sin embargo el numero de unidades formadoras de colonias en los fetos AEG no fue diferente de las producidas en los fetos grandes o pequeños.

En el estudio del tipo de extracción para la recogida de sangre de cordón umbilical, hallamos que no existen diferencias significativas en cuanto al

número de CFU-GEMM tanto en los partos vaginales como en las cesáreas. A continuación mostramos los resultados en la tabla siguiente:

Tabla 85

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	P
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	4,115 \pm 6,309 192	NS
	Ex útero	5,057 \pm 7,699 242	
Partos vaginales	In útero	4,152 \pm 5,049 135	NS
	Ex útero	4,832 \pm 8,175 161	
Cesáreas	In útero	4,061 \pm 8,720 56	NS
	Ex útero	5,504 \pm 6,679 81	

Asimismo, tampoco hallamos diferencias significativas cuando éste mismo análisis lo realizamos para nuestro grupo control de gestaciones a término y sin patología. Obtenemos los siguientes datos:

Tabla 86

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	4,504 \pm 6,685 112	NS
	Ex útero	4,931 \pm 7,606 224	
Partos vaginales	In útero	4,076 \pm 4,088 79	NS
	Ex útero	4,678 \pm 8,073 149	
Cesáreas	In útero	5,701 \pm 10,741 32	NS
	Ex útero	5,435 \pm 6,604 75	

Para completar el estudio del modo de recolección de la SCU, comparamos ambos tipos en función de la vía del parto y no hallamos diferencias para la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias Mixtas obtenida.

Tabla 87

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	P
In útero	Parto vaginal	4,076 \pm 4,088 79	NS
	Cesárea	5,701 \pm 10,741 32	
Ex útero	Parto vaginal	4,678 \pm 8,073 149	NS
	Cesárea	5,435 \pm 6,604 75	

También analizamos la posible influencia de la patología obstétrica en el parámetro hematológico CFU-GEMM. Así, practicamos un análisis de la varianza en el que obtuvimos una **F= 1,693** y una **p no significativa**. En la tabla siguiente se muestran los resultados:

Tabla 88

Tipo de patología	Media \pm desv. típica N
Sin patología	4,778 \pm 7,285 338
Estados hipertensivos del embarazo	1,129 \pm 1,396 7
Oligoamnios	19 1
DMID	2,191 \pm 4,679 11
DMNID	1,57 \pm 2,365 4
Prematuridad	6,156 \pm 7,765 45
Gestación gemelar	1,02 \pm 1,055 5
Hipotiroidismo	1,764 \pm 2,334 7
LES	0,56 \pm 0,095 4
HTA	1,04 \pm 0,953 5

Por último y utilizando los parámetros obstétricos que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con el número de

Unidades Formadoras de Colonias Mixtas de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes.

Análisis univariante para el número de Unidades Formadoras de Colonias Mixtas:

Tabla 89

Parámetro	r	P
Duración del parto en horas	0,115	0,034
Peso del RN en gramos	0,151	0,002
Percentil de peso del RN	0,150	0,002
Peso de la placenta en gramos	0,186	0,001
Log Apgar al 1 minuto	-0,144	0,004

Análisis multivariante para el número de Unidades Formadoras de Colonias Mixtas, $R^2= 0,060$:

Tabla 90

Parámetro	Coficiente	P
Peso de la placenta en gramos	0,197	0,001
Logaritmo de Apgar al 1 minuto	-0,154	0,006

10. NÚMERO DE COLONIAS

También estudiamos las correlaciones existentes entre el número de colonias y el resto de parámetros, hallando una asociación positiva con el volumen de recogida de sangre en ml, el contaje de células nucleadas totales tanto pre como post-procesamiento, las células CD34 post-procesamiento, el porcentaje de células CD34, las unidades formadoras de colonias tipo eritroides, granulocítico-macrofágicas y mixtas, la duración de la gestación en

semanas, el peso del recién nacido y su percentil, y el peso de la placenta. Lo que nos indica que a mayor valor de estos parámetros, obtendremos un mayor número de colonias.

También se halló una asociación negativa con el logaritmo del Índice de Apgar al primer minuto. A continuación se pueden observar estos datos pormenorizados en la tabla siguiente:

Tabla 91

Parámetro	R	P	N
Volumen de recogida en ml	0,354	0,001	437
CNT pre-procesamiento x 10 ⁸	0,454	0,001	437
CNT post-procesamiento x 10 ⁸	0,413	0,001	414
CD34 post-procesamiento x 10 ⁶	0,524	0,001	434
CD34 %	0,342	0,001	412
BFU-E	0,944	0,001	437
CFU-GM	0,949	0,001	437
CFU-GEMM	0,491	0,001	437
Duración de la gestación en semanas	0,138	0,004	427
Peso del RN en gramos	0,152	0,002	432
Percentil de peso del RN	0,110	0,024	424
Peso de la placenta en gramos	0,228	0,001	424
Log Apgar al 1 minuto	-0,112	0,026	393

No se observó ningún tipo de asociación entre el número de colonias y los siguientes parámetros:

- Viabilidad %
- Número de gestaciones
- Número de partos
- Tiempo de rotura de membranas
- Duración del parto en horas

pH arterial
 pH venoso
 PO2
 PCO2
 Log Apgar al 5 minuto

Seguidamente se analiza la influencia de las diferentes variables cualitativas materno-fetales en el número de colonias de la muestra de sangre de cordón umbilical recogida. Observamos que se obtiene mayor número de colonias en sangre de cordón umbilical si la edad gestacional es mayor o igual a 34 semanas. El resto de parámetros no ofrecen significación estadística. Estos resultados se objetivan en la tabla siguiente:

Tabla 92

VARIABLE		Media ± desv. típica N	P
Sexo	Varón	131,457 ± 140,573 226	NS
	Mujer	109,697 ± 112,242 208	
Prematuridad	EG ≥ 34 semanas	125,144 ± 129,781 411	0,003
	EG < 34 semanas	27,049 ± 22,709 16	
Vía del parto	Vía Vaginal	121,318 ± 128,308 296	NS
	Cesárea	120,167 ± 127,222 140	
pH de arteria umbilical	< 7,20	138,029 ± 117,160 46	NS
	≥ 7,20	121,943 ± 132,033 245	
Aspecto de Líquido Amniótico	Claro	133,081 ± 134,312 302	NS
	Meconial	131,020 ± 114,897 77	

También exploramos la importancia de la instrumentación vaginal en el parámetro de las colonias. Para ello dividimos los partos en: cesáreas, partos vaginales espontáneos e instrumentados. Tras practicar un análisis de la varianza obtenemos una **F=0,207**, y **p=NS**. En la tabla siguiente se reflejan los resultados:

Tabla 93

Tipo de parto	Media \pm desv. típica N
Cesárea	120,167 \pm 127,222 140
Espontáneo	118,331 \pm 127,055 212
Instrumentado	128,857 \pm 131,886 84

Por otro lado quisimos valorar si el peso del recién nacido influía en el número de colonias que se puede obtener de una muestra de sangre de cordón. Con este propósito agrupamos los pesos según percentiles en PEG, AEG y GEG. En el análisis de la varianza practicado obtenemos una significación que da como resultado una **F=4,814** y **p=0,009**. A continuación presentamos los resultados:

Tabla 94

Clasificación según percentil	Media \pm desv. Típica N
PEG	95,268 \pm 112,782 14
AEG	115,951 \pm 121,576 368
GEG	178,544 \pm 178,229 42

Tras realizar un análisis de rango múltiple tipo Student-Newman-Keuls se observan que existen diferencias de las tres variables entre sí, pudiéndose establecer respecto del número de colonias el siguiente orden de potencia con significación estadística: **GEG > PEG**, sin embargo el número de colonias en los fetos AEG no fue diferente de las producidas en los fetos grandes o pequeños.

En lo que se refiere a la importancia de recoger la sangre de cordón mediante las diferentes técnicas de extracción, únicamente hallamos diferencias significativas para el número total de colonias, a favor de la recogida exútero en los partos abdominales. En la tabla siguiente se muestran los resultados:

Tabla 95

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	109,875 \pm 132,714 192	NS
	Ex útero	130,034 \pm 123,826 242	
Partos vaginales	In útero	120,928 \pm 138,704 135	NS
	Ex útero	121,645 \pm 119,335 161	
Cesáreas	In útero	83,449 \pm 115,233 56	0,004
	Ex útero	146,709 \pm 131,475 81	

Sin embargo, cuando éste mismo análisis lo realizamos para nuestro grupo control de gestaciones a término y sin patología, no hallamos diferencias significativas en cuanto al número total de colonias, como podemos apreciar en la tabla siguiente:

Tabla 96

Procedencia de las USC	Tipo de recogida	Media \pm desv. típica n	p
Partos y cesáreas conjuntamente	In útero	136,537 \pm 148,226 112	NS
	Ex útero	129,201 \pm 125,071 224	
Partos vaginales	In útero	144,664 \pm 152,56 79	NS
	Ex útero	119,933 \pm 119,584 149	
Cesáreas	In útero	120,383 \pm 138,444 32	NS
	Ex útero	147,613 \pm 134,248 75	

Para completar el estudio del modo de recolección de la SCU, comparamos ambos tipos en función de la vía del parto, en la siguiente tabla podemos apreciar que no existen diferencias significativas en cuanto al número total de colonias en función de la vía del parto para un mismo modo de recolección de sangre de cordón.

Tabla 97

Tipo de recogida	Vía del parto	Media \pm desv. típica n	P
In útero	Parto vaginal	144,664 \pm 152,56 79	NS
	Cesárea	120,383 \pm 138,444 32	
Ex útero	Parto vaginal	119,933 \pm 119,584 149	NS
	Cesárea	147,613 \pm 134,248 75	

A continuación, analizamos la importancia de la patología obstétrica con respecto al número Colonias. Tras realizar un análisis de la varianza, obtuvimos una **F= 2,265** y una **p= 0,017**, seguidamente aplicamos un Test de Dunnett bilateral, comparando el grupo de gestantes sin patología obstétrica con el resto que sí presentaban. Si bien el análisis de la varianza fue significativo, el Test de Dunnet no lo fue debido al escaso poder por el bajo número de casos en algunos grupos. En la tabla siguiente mostramos los resultados:

Tabla 98

Tipo de patología	Media \pm desv. típica n
Sin patología	131,316 \pm 132,735 338
Estados hipertensivos del embarazo	68,111 \pm 110,151 7
Oligoamnios	276,5 1
DMID	37,477 \pm 45,042 11
DMNID	95,615 \pm 161,943 4
Prematuridad	119,049 \pm 116,016 45
Gestación gemelar	19,66 \pm 14,182 5
Hipotiroidismo	40,6 \pm 45,468 7
LES	24,08 \pm 15,554 4
HTA	35,84 \pm 38,435 5

Por otro lado y en lo que se refiere al número de Unidades Formadoras de Colonias Eritroides, Granulocítico-Macrofágicas y al total de Colonias, al observar detenidamente las tablas y el número de casos por grupo, si depuramos aquellos casos de pocos elementos por grupo, no se observan diferencias significativas con el Test de Dunnett. Sin embargo, al explorar los resultados respecto de los mencionados parámetros hematológicos, llama la atención la menor cantidad de colonias en pacientes con DMID. Si aplicamos una prueba de mínima diferencia significativa de forma consistente entre el grupo sin patología y el grupo de pacientes con DMID, sí encontramos un menor número en éste grupo con un nivel de significancia $p < 0,05$, tanto para las BFU-E ($p = 0,036$), las CFU-GM ($p = 0,022$) como para el número total de colonias ($p = 0,02$).

Ahondando en la patología obstétrica que en principio podemos encontrar con relativa prevalencia en nuestra población, hemos agrupado las patologías que potencialmente pueden producir vasculopatías o con génesis vascular: DMID, LES y HTA. Tras aplicar un análisis de la varianza hemos obtenido una significación que nos ha permitido practicar un test de Dunnett. Los resultados que se muestran en las tablas 99 y 100, rebelan que existen diferencias significativas a favor del grupo sin patología respecto del grupo con patología vascular, en cuanto a los siguientes parámetros hematológicos: BFU-E, CFU-GM y Colonias totales.

Tabla 99

	NO PATOLOGÍA	PATOLOGÍA VASCULAR
Parámetro hematológico	Media ± desv. Típica N	Media ± desv. Típica N
BFU-E	67,825 ± 70,065 338	27,491 ± 40 27
CFU-GM	58,461 ± 66,559 338	14,141 ± 23,450 27
Colonias	131,316 ± 132,735 338	43,317 ± 63,878 27

Tabla 100

Parámetro hematológico	ANOVA		T DE DUNNETT	
	F	p	Diferencia de medias	N
BFU-E	3,828	0,01	-40,334	0,008
CFU-GM	5,154	0,002	-44,319	0,002
Colonias	5,032	0,002	-88	0,002

Por último y utilizando los parámetros que se asocian con los valores de los indicadores putativos de SCU, realizaremos un análisis de regresión múltiple para ver cuáles están relacionados con el número total de colonias de la sangre de cordón umbilical. Estos resultados quedan representados en las tablas siguientes:

Análisis univariante para el número total de colonias:

Tabla 101

Parámetro	r	P
Duración de la gestación en semanas	0,138	0,004
Peso del RN en gramos	0,152	0,002
Percentil de peso del RN	0,110	0,024
Peso de la placenta en gramos	0,228	0,001
Log Apgar al 1 minuto	-0,112	0,026

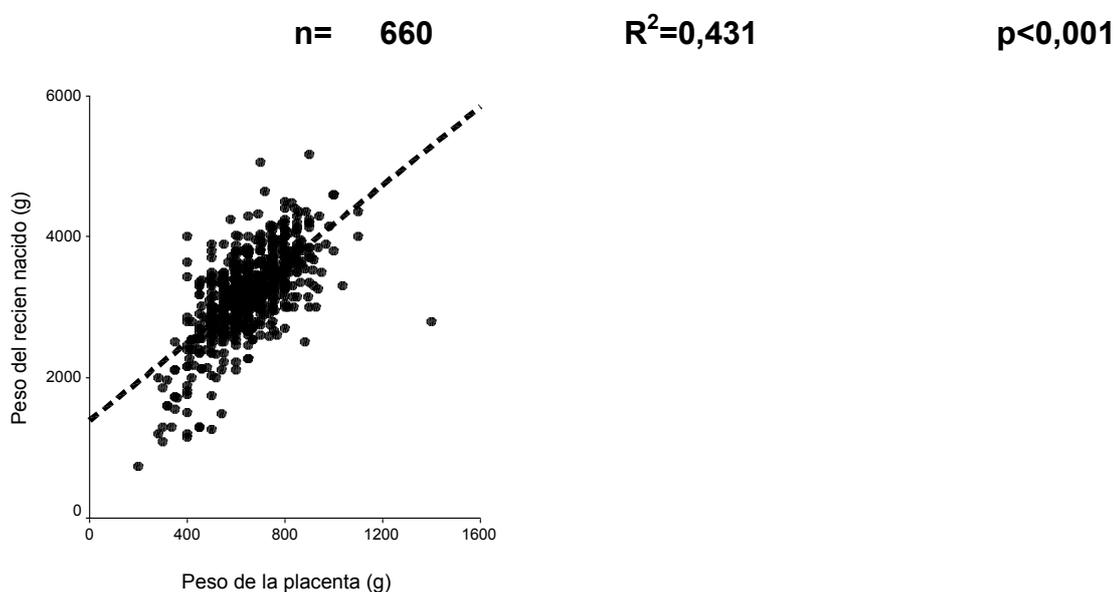
Análisis multivariante para el número total de colonias $R^2= 0,075$

Tabla 102

Parámetro	Coficiente	P
Peso de la placenta en gramos	0,213	0,001
Logaritmo de Apgar al 1 minuto	-0,126	0,011
Edad gestacional en semanas	0,093	0,087

Si valoramos de forma global el análisis multivariante de todos los parámetros hematológicos investigados, nos llama la atención que el peso de la placenta es prácticamente una constante (excepto para la viabilidad celular) que influye en cada uno de dichos parámetros. Es conocido que el peso de la placenta y el del recién nacido están íntimamente relacionados, pero nosotros hemos querido demostrarlo para nuestra casuística mediante una regresión lineal, cuya fórmula obedece a:

$$\text{Peso del RN (g)} = 1381 + 2,79 \times \text{peso de la placenta (g)}$$



Esto demuestra la constancia de esta relación, así, podemos tomar el peso del recién nacido como un subrogado de la placenta. La importancia de esta relación reside en que a priori el peso de la placenta no es un dato conocido para poder discriminar entre qué USC deberíamos tomar en consideración y cuáles deberíamos desechar su recogida para optimizar la labor de los Bancos de Sangre de Cordón. En cambio, el peso del recién nacido, gracias a una estimación ecográfica previa, sí es un dato con el que podemos contar anteparto para valorar si es pertinente poner en funcionamiento la dinámica de la recogida de sangre de cordón.

El principal factor limitante para un amplio uso de las USC para trasplante es la celularidad contenida. En este sentido, muchos Bancos de

Sangre de Cordón han tomado como cifra de corte mínima requerida para trasplante de $6-10 \times 10^8$ Células Nucleadas Totales.

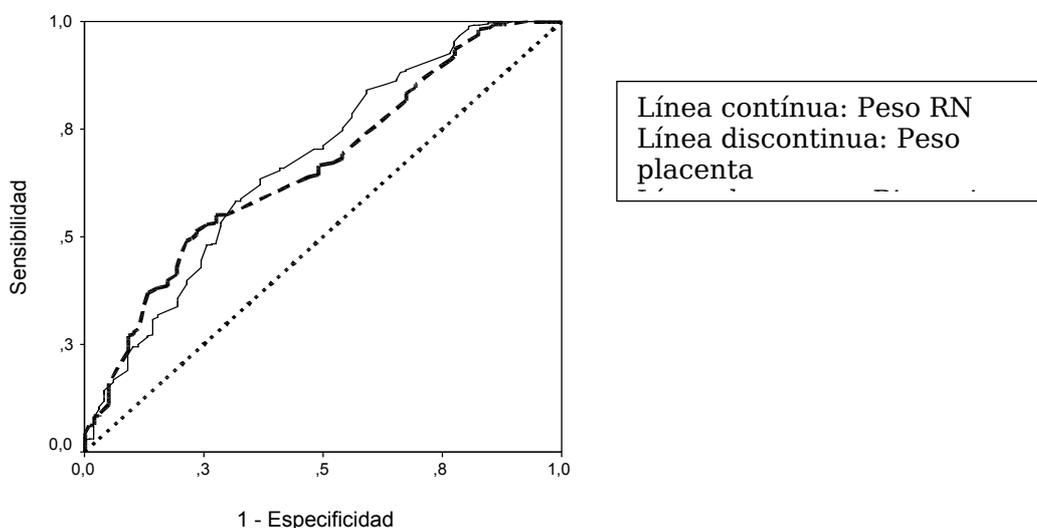
Por otra parte, tal y como hemos demostrado, el peso del recién nacido y el de la placenta influyen en el contenido hematopoyético de las USC. En relación a esto y para seleccionar los mejores donantes de sangre de cordón según la Celularidad Nucleada Total post-procesamiento $\times 10^8$ hemos realizado el siguiente análisis de curvas ROC:

CNT $\times 10^8$	Punto de corte	Área bajo la curva \pm Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%
6×10^8 Peso neonatal (g) Peso placenta (g)	≥ 3280 ≥ 680	$0,673 \pm 0,032$ $0,662 \pm 0,03$	$0,611 - 0,735$ $0,602 - 0,721$
8×10^8 Peso neonatal (g) Peso placenta (g)	≥ 3280 ≥ 675	$0,662 \pm 0,025$ $0,619 \pm 0,026$	$0,612 - 0,711$ $0,568 - 0,670$
10×10^8 Peso neonatal (g) Peso placenta (g)	≥ 3320 ≥ 675	$0,689 \pm 0,025$ $0,651 \pm 0,027$	$0,64 - 0,738$ $0,599 - 0,704$

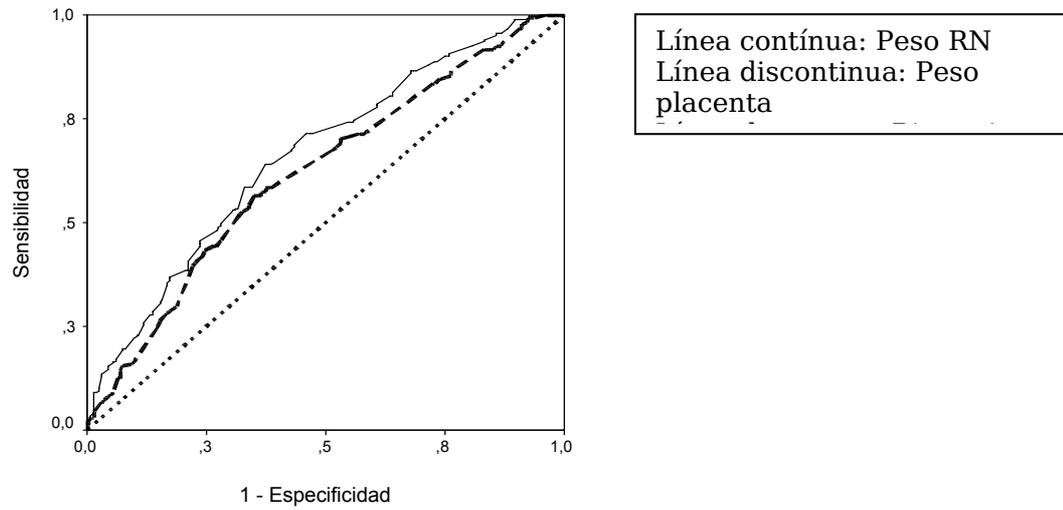
P < 0,001

No existen diferencias entre las áreas bajo la curva de peso neonatal o del peso de la placenta.

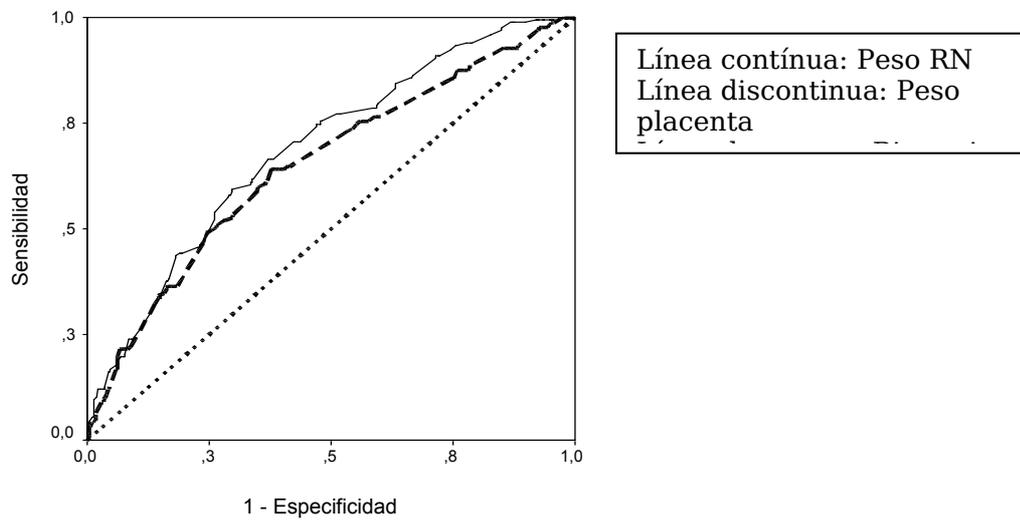
Curva ROC para CNT $\geq 6 \times 10^8$ en función del peso del RN y de la placenta:



Curva ROC para $CNT \geq 8 \times 10^8$ en función del peso del RN y de la placenta:



Curva ROC para $CNT \geq 10 \times 10^8$ en función del peso del RN y de la placenta:



Resultado del análisis de las curvas ROC respecto del peso de la placenta

- CNT 6 punto de corte peso de la placenta mayor 680 gramos

Peso de la placenta (g)	CNT > 6	CNT <6
> 680	190	23
< 680	182	75

La primera columna son los valores expresados, en tanto que las dos siguientes son los intervalos de confianza del 95%.

Sensibilidad	51,1%	46,0%	a 56,1%
Especificidad	76,5%	67,2%	a 83,8%
Valor predictivo positivo	89,2%	84,3%	a 92,7%
Valor predictivo negativo	29,2%	24,0%	a 35,0%
LR(+)	2,18	1,50	a 3,15
LR(-)	0,64	0,56	a 0,73

- CNT 8 punto de corte peso de la placenta mayor 675 gramos

Peso de la placenta (g)	CNT > 8	CNT <8
Peso > 675	150	71
Peso < 675	117	132

Sensibilidad	56,2%	50,2%	a 62,0%
Especificidad	65,0%	58,2%	a 71,3%
Valor predictivo positivo	67,9%	61,5%	a 73,7%
Valor predictivo negativo	53,0%	46,8%	a 59,1%
LR(+)	1,61	1,29	a 1,99
LR(-)	0,67	0,57	a 0,80

- CNT 10 punto de corte peso de la placenta mayor 675 gramos

Peso de la placenta (g)	CNT > 10	CNT <10
> 675	107	114
< 675	60	189

Sensibilidad	64,1%	56,6%	a 71,0%
Especificidad	62,4%	56,8%	a 67,6%
Valor predictivo positivo	48,4%	41,9%	a 55,0%
Valor predictivo negativo	75,9%	70,2%	a 80,8%
CPP o LR(+)	1,70	1,42	a 2,05
CPN o LR(-)	0,58	0,46	a 0,72

Al buscar un punto de corte óptimo para obtener mayor celularidad en función del peso de la placenta, observamos que dicho punto de corte tan sólo varía 5 gramos, (675 a 680) lo que resulta de todo punto irrelevante, incluso para mayor celularidad el peso es menor, 675 g, lo cual obliga a procesar todas las placentas y no se deben descartar a priori ninguna con pesos superiores a 675 gramos.

Resultado del análisis de las curvas ROC respecto del peso del RN

- CNT 6 punto de corte peso del RN mayor 3280 gramos

Peso del RN (g)	CNT > 6	CNT < 6
> 3280	222	31
< 3280	159	67

Sensibilidad	58,3%	53,3% a 63,1%
Especificidad	68,4%	58,6% a 76,7%
Valor predictivo positivo	87,7%	83,1% a 91,2%
Valor predictivo negativo	29,6%	24,1% a 35,9%
LR(+)	1,84	1,36 a 2,49
LR(-)	0,61	0,53 a 0,71

- CNT 8 punto de corte peso del RN mayor 3280 gramos.

Peso del RN (g)	CNT > 8	CNT <8
Peso > 3280	175	78
Peso < 3280	98	128

Sensibilidad	64,1%	58,3% a 69,6%
Especificidad	62,1%	55,3% a 68,5%
Valor predictivo positivo	69,2%	63,2% a 74,5%
Valor predictivo negativo	56,6%	50,1% a 62,9%
LR(+)	1,69	1,39 a 2,06
LR(-)	0,58	0,48 a 0,70

-CNT 10 punto de corte peso del RN mayor 3320 gramos.

Peso del RN (g)	CNT > 10	CNT <10
> 3320	114	118
< 3320	56	191

Sensibilidad	67,1%	59,7% a 73,7%
Especificidad	61,8%	56,3% a 67,1%
Valor predictivo positivo	49,1%	42,8% a 55,5%
Valor predictivo negativo	77,3%	71,7% a 82,1%
LR(+)	1,76	1,47 a 2,10
LR(-)	0,53	0,42 a 0,68

Si utilizamos el criterio ponderal para maximizar la celularidad, el máximo rendimiento se obtiene con peso de 3320 g para CNT mayor de 10 (40 g mas que para celularidades menores), esto que puede ser relevante, no es útil cuando se estima el peso fetal ecograficamente, ya que los errores que se cometen en las estimaciones fetales se sitúan en los mejores casos entre el 5 a 10%. No ocurriría lo mismo al pesar el RN, ya que la diferencia es de 40 g. Los valores predictivos positivos sólo son diferentes estadísticamente cuando la celularidad es de 6 frente a 8 y 10, sin embargo si pensamos en términos de ahorro al procesar muestras de RN con pesos superiores a los tomados como punto de corte, para una celularidad de 10 tendríamos que procesar 232 muestras, en tanto que para 6 y 8 serían 253, lo que supone un ahorro en procesamiento del 4.39%

IX. DISCUSIÓN

La sangre de cordón umbilical se ha convertido en una alternativa real al trasplante de progenitores hematopoyéticos de médula ósea y de sangre periférica. Desde que se realizó el primer trasplante²⁰ en el año 1988 hasta la actualidad, se han realizado más de 4000 trasplantes de sangre de cordón en todo el mundo⁶⁵. Aunque los primeros trasplantes de SCU se realizaron en pacientes pediátricos, los trasplantes en adultos han aumentado de manera considerable en los últimos años⁶⁶.

La calidad de una unidad de SCU viene definida básicamente por su volumen y su contenido en células nucleadas totales (CNT), células CD34⁺ y unidades formadoras de colonias (CFU). Estos 4 parámetros se correlacionan significativamente entre sí, de manera que a mayor volumen mayor celularidad y mayor contenido en progenitores hematopoyéticos CD34⁺ y CFU⁶⁷. La CNT es una medida indirecta del contenido de precursores hematopoyéticos de una unidad de SCU, puesto que sólo una parte de la CNT corresponde a los precursores hematopoyéticos. Las células precursoras hematopoyéticas, que son las verdaderamente responsables de la restauración de la hematopoyesis en pacientes que han sido sometidos a quimioterapia mieloablativa, se cuantifican mediante la presencia del antígeno CD34⁺, mientras que su funcionalidad se determina *in vitro* mediante la cuantificación de unidades formadoras de colonias (CFU). Por ello, no es de extrañar que de los 4 parámetros que caracterizan la SCU, éstos sean los que muestran una mejor correlación entre sí⁶⁸. Sin embargo, hasta la fecha actual y debido al escaso contenido en progenitores hematopoyéticos CD34⁺, la CNT es el parámetro que se considera para valorar la idoneidad de una unidad para trasplantarla a un determinado paciente. Aunque los primeros análisis de los resultados de pacientes trasplantados con sangre de cordón establecieron que la CNT requerida para obtener el prendimiento hematopoyético en más del 80% de pacientes era de $3,7 \times 10^7$ /kg de peso²⁰, actualmente esta cifra ha descendido hasta $1,5 \times 10^7$ /Kg⁶⁹. Hay que destacar que esta dosis celular es hasta un logaritmo menor que la celularidad requerida para un trasplante de médula ósea convencional.

La sangre de cordón como fuente de progenitores hematopoyéticos para trasplante, presenta múltiples ventajas respecto a los progenitores hematopoyéticos de médula ósea y/o sangre periférica entre las que se encuentran: su fácil disponibilidad al ser un recurso que habitualmente se desecha, la práctica ausencia de riesgo para el donante, la menor incidencia de transmisión de enfermedades infecciosas, fundamentalmente del citomegalovirus, la mayor cantidad y capacidad de proliferación de los progenitores hematopoyéticos más primitivos CD34⁺/CD38⁻, así como la inmadurez de sus linfocitos T lo que permite un menor grado de compatibilidad HLA entre donante y receptor y disminuye la incidencia de complicaciones postrasplante (principalmente de la temida y frecuente enfermedad injerto contra huésped). Sin embargo, presenta también algunos inconvenientes entre los que destacan dos fundamentalmente: su contenido limitado y en ocasiones escaso de progenitores hematopoyéticos y la probabilidad de transmisión de alguna enfermedad hereditaria/congénita no observada en el momento del nacimiento. También se ha sugerido que la SCU podría generar una menor reacción injerto contra leucemia y consecuentemente una mayor probabilidad de recaída de la enfermedad. La limitación del contenido en precursores hematopoyéticos supone que la mayoría de unidades almacenadas en los bancos sólo tienen celularidad suficiente para ser trasplantadas a pacientes de menos de 40 Kg, y sólo existe un pequeño porcentaje de unidades útil para pacientes de más de 60 Kg.

Paralelamente al auge de la actividad clínica, se han desarrollado los bancos de sangre de cordón umbilical con el objetivo de garantizar que la recogida, procesamiento, caracterización y almacenamiento de las unidades se realice en las condiciones óptimas, de manera que quede asegurada la calidad de las unidades de sangre de cordón para trasplante. Uno de los objetivos primordiales de los bancos de cordón es aumentar el contenido de progenitores hematopoyéticos de las unidades almacenadas, para que sean útiles para el mayor número posible de pacientes. Con este fin, la mayoría de bancos fijan un umbral mínimo de CNT, que habitualmente oscila entre 50×10^7 y 100×10^7 , de manera que sólo se criopreservan y finalmente almacenan aquellas unidades de SCU que lo igualan o superan. Ello obliga a desechar un gran número de

unidades, que en ocasiones puede llegar al 70%, antes de la criopreservación⁷⁰. En este contexto, es de gran interés conocer qué factores obstétricos influyen en la calidad de las unidades recogidas, para así poder establecer unos criterios que nos permitan seleccionar las donaciones y recoger las unidades de SCU de mayor contenido en precursores hematopoyéticos. Con ello, conseguiremos optimizar la recogida, disminuyendo el número de unidades recogidas y desechadas antes del almacenamiento, y por consiguiente la carga de trabajo del personal de la maternidad. Por ello, nosotros hemos querido investigar la influencia que tienen los distintos factores obstétricos en la calidad de las unidades de SCU recogidas en el Hospital Maternal La Fe, integrado en el Banco de sangre de Cordón Umbilical de la Comunidad Valenciana. Este Hospital fue el primero en iniciar las actividades de recogida de unidades de SCU a principios del año 1999, y su personal cuenta con amplia experiencia. Aunque existen algunos estudios sobre este tema, la mayoría presentan resultados contradictorios entre sí y existen pocos datos concluyentes^{57-59,71-76}.

Hemos analizado la influencia de los distintos factores obstétricos en el volumen, CNT, células CD34⁺ y CFU de las unidades de SCU recogidas. Nuestro análisis revela que el volumen de recogida de las unidades de SCU, depende fundamentalmente del peso del recién nacido y del peso de la placenta, de manera que a mayor peso del recién nacido y de la placenta, mayor volumen de las unidades de SCU recogidas. Esta relación parece lógica, puesto que a mayor peso, mayor volemia y por lo tanto mayor cantidad de SCU permanece en la placenta tras el nacimiento. Además coincide con los resultados aportados por otros autores⁵⁸. Sin embargo, el volumen, no se ve afectado por los antecedentes obstétricos de la donante ni por el estrés fetal, en términos de equilibrio ácido-base de cordón umbilical y aspecto del líquido amniótico. También se obtienen mayores volúmenes a mayor edad gestacional que por lo general implica mayor peso de forma proporcional, tomando semana 34 como punto de corte (99 vs 58 ml, $p < 0.001$).

La influencia del tipo de parto en la calidad de las unidades de SCU recogidas no está aclarado. La mayoría de estudios publicados obtienen más

volumen en las unidades de SCU recogidas de las cesáreas ^{64,73}. Los estudios de algunos autores apoyan estos resultados, puesto que han demostrado que la colocación del recién nacido sobre el abdomen materno antes del pinzamiento del cordón y de la recogida de la SCU se relaciona con un mayor volumen de las unidades de SCU ⁷⁷. Sin embargo, modificar la sistemática del parto con el único objetivo de mejorar la recogida de la SCU no parece una medida éticamente adecuada. Además, una de las premisas fundamentales del proceso de recogida de la SCU, establecida por los estándares internacionales, es que no debe alterar ni interferir la sistemática del parto. Contrariamente a lo publicado en estos estudios, nosotros obtuvimos más volumen y CNT en las unidades de SCU recogidas de partos vaginales que en las recogidas de cesáreas, sobretodo para los partos instrumentados. Sin embargo, en los estudios publicados, el contenido en precursores hematopoyéticos CD34⁺ y CFU fue similar para ambos grupos⁶⁴. Estos autores concluyen que las unidades procedentes de partos vaginales poseen mayor concentración de leucocitos e idéntico contenido en progenitores hematopoyéticos CD34⁺, lo que coincide con nuestros resultados. Por todo ello y basándonos en nuestros datos, podemos concluir que el tipo de parto no condiciona significativamente la calidad de las unidades de SCU, y las donaciones procedentes de ambos tipos de partos son aptas para el banco.

Cuando analizamos los factores obstétricos que condicionan la CNT de las unidades de SCU, observamos que ésta se encuentra influenciada por los mismos factores que el volumen de recogida. Puesto que existe una buena correlación entre el volumen y la CNT, parece razonable el que se vea influenciado por los mismos parámetros. Además, la CNT también está influenciada de manera positiva por algunos parámetros que caracterizan el estrés fetal, como el pH de arteria umbilical < 7,20 y el líquido amniótico meconial, y de forma negativa por la prematuridad. Tras realizar el análisis multivariante, los factores significativamente influyentes en la CNT de las unidades de SCU son la edad gestacional, el peso de la placenta, la duración del parto, el pH de arteria umbilical y la vía del parto. Según nuestros resultados, la cantidad de progenitores hematopoyéticos, cuantificados como células CD34⁺ totales, depende del peso de la placenta, del logaritmo del Índice

de Apgar al primer minuto y del sexo del recién nacido. Existen muy pocos estudios que analicen específicamente la influencia de los factores de estrés durante el parto en la calidad de las unidades de SCU recogidas. Lim y cols.⁵⁹ concluyen que los parámetros neonatales que suponen estrés durante el parto, como el índice de Apgar y el estado ácido base aumentan significativamente el contenido en precursores hematopoyéticos CD34⁺ de la SCU. Estos autores, relacionan el pH venoso bajo con cifras altas de CNT y de células CD34⁺ en las unidades de SCU recogidas. Contrariamente a lo publicado por estos autores, nuestros resultados muestran que es el pH arterial bajo, y no el venoso, el que condiciona un aumento significativo de las células precursoras hematopoyéticas CD34⁺, demostrando que es un mejor indicador del estrés fetal que el pH venoso. Como hemos comentado previamente, los partos instrumentados, que también suponen un factor de estrés, permiten recoger unidades de SCU con mayor volumen y celularidad. La presencia de líquido amniótico meconial se ha relacionado en algunos estudios con una mayor cantidad de progenitores hematopoyéticos en las unidades de SCU^{57,59}, aunque en general se acepta que es un mal indicador del estrés fetal. Nuestros resultados apoyan esta afirmación puesto que el líquido amniótico no es un factor que influya independientemente en ninguno de los parámetros de calidad de las unidades de SCU. Únicamente cuando comparamos el grupo de líquido amniótico normal con el de meconial, observamos un mayor contenido en CNT en el grupo de líquido meconial. Sin embargo el contenido en volumen y progenitores hematopoyéticos CD34⁺ y CFU es similar para ambos grupos. De nuestros resultados concluimos que la presencia de líquido amniótico meconial no debe ser un factor de exclusión para las donaciones de SCU. El mecanismo por el que todos estos factores de estrés producen un aumento de progenitores hematopoyéticos en las unidades de SCU recogidas, parece ser el de la movilización de dichos progenitores al torrente sanguíneo desde el tejido hematopoyético. Teniendo en cuenta estos resultados, las donaciones procedentes de partos con características de estrés pueden ser aceptados para el banco.

También hemos observado que a mayor edad gestacional las unidades recogidas poseen mayor cantidad de CNT. Sin embargo, ello no se acompaña

de un aumento proporcional del porcentaje de precursores hematopoyéticos CD34⁺. En este sentido, algunos autores han demostrado que la SCU procedente de partos post-término tienen mayor contenido de CNT, pero menor cantidad de CD34⁺ ⁵⁸. Esto se ha hipotetizado que podría ser debido a que la rápida disminución de progenitores de la circulación que normalmente ocurre en los primeros días de vida ⁷⁸, ocurre ya in útero si el embarazo se prolonga y la función placentaria empieza a disminuir.

Existen pocos estudios en la literatura que analicen la influencia de la prematuridad en el contenido de progenitores hematopoyéticos de las unidades de SCU ⁷⁴. Los estándares internacionales elaborados por las organizaciones Netcord y Facht para los bancos de cordón ⁷⁹, establecen como principal criterio obstétrico que las donaciones de SCU deben recogerse de gestaciones de al menos 34 semanas. Por ello, tuvimos en cuenta este punto de corte y analizamos las características de las donaciones según procedieran de partos de ≥ 34 semanas y < 34 semanas de gestación. Las donaciones procedentes de gestaciones de < 34 semanas tienen menor volumen, CNT, CD34⁺ en cifras totales. Sin embargo, el porcentaje de células CD34⁺ es similar para ambos grupos. Cuando comparamos el grupo de prematuros con el grupo control, se confirma un mayor porcentaje de células CD34⁺ en las unidades recogidas de prematuros. Como hemos apuntado en párrafos anteriores, a mayor edad gestacional mayor contenido en CNT de las unidades de SCU, pero menor en progenitores hematopoyéticos CD34⁺ e inversamente, a menor edad gestacional menor cantidad de CNT pero mayor porcentaje de células progenitoras hematopoyéticas CD34⁺. Por todo esto, la prematuridad por sí misma no debe ser un factor de exclusión, aunque es cierto que los prematuros importantes tienen menor peso y aunque el porcentaje de células CD34⁺ sea alto, las cifras de CNT no son suficientes en la mayoría de los casos para que estas unidades superen el umbral mínimo de celularidad establecido por el banco y puedan finalmente ser almacenadas. Así, mantener el criterio de edad gestacional mayor o igual de 34 semanas nos parece adecuado como criterio obstétrico de inclusión/exclusión de las donantes de sangre de cordón.

La influencia del sexo del RN en la calidad de las unidades de SCU es un tema controvertido. La mayoría de estudios publicados no encuentran relación significativa entre ambos⁸⁰. Únicamente un estudio publicado recientemente por Aroviita y cols⁶⁸. concluye que mientras las donaciones procedentes de RN varones contienen mayor cantidad de precursores hematopoyéticos CD34⁺, las donaciones procedentes de RN mujeres contienen mayor cantidad de CNT a costa de un mayor porcentaje de neutrófilos. Nuestros resultados apoyan parcialmente estos datos, puesto que demuestran que las donaciones procedentes de RN varones contienen mayor cantidad de progenitores hematopoyéticos CD34⁺ tanto en porcentaje como en cifras totales, pero sin embargo contienen cifras similares de volumen, CNT y progenitores hematopoyéticos expresados como CFU, que las donaciones procedentes de recién nacidos mujeres. Por ello, de nuestros resultados no podemos concluir fehacientemente que las donaciones procedentes de RN varones contengan mayor cantidad de progenitores hematopoyéticos. Además, estas diferencias pueden ser atribuidas al mayor peso que tienen los RN varones respecto de las mujeres.

Al analizar la viabilidad celular en porcentaje, observamos que las muestras procedentes de gestaciones < 34 semanas son más viables (96 vs 91, p=0,012) y también las procedentes de cesáreas (92 vs 90, p=0.005). Si nos fijamos en el método de recogida, únicamente hallamos diferencias significativas en las cesáreas, y de nuevo a favor de la recogida intraútero (93 vs 91% de viabilidad celular, p=0,009). Se refuerza así la propuesta de no despreciar las donaciones de gestaciones con prematuridad y de abogar por el método intrauterino de recogida de sangre de cordón siempre que sea posible.

Hemos observado al valorar en conjunto el análisis multivariante que el peso de la placenta es el único factor obstétrico que ejerce influencia estadísticamente significativa de una manera constante e independiente para todos los parámetros hematológicos estudiados que determinan la calidad de las unidades de SCU (excepto para la viabilidad celular que únicamente se asocia a la presión parcial de oxígeno en sangre de cordón). Hemos demostrado también que el peso de la placenta se relaciona con el peso del

recién nacido. Partiendo de estos datos, nos planteamos realizar un análisis estadístico de curva ROC para determinar los puntos de corte del parámetro peso del recién nacido, que nos permita optimizar la recogida y disminuir el número de unidades recogidas y rechazadas. La curva ROC (Receiver Operating Characteristic) es un tipo de análisis estadístico que habitualmente se utiliza para determinar el punto de corte de una técnica de laboratorio utilizando los datos de sensibilidad y especificidad. Nosotros pensamos que podría tener aplicación para establecer el peso del recién nacido más adecuado para seleccionar unidades con un umbral determinado de CNT. Así, para un umbral de CNT de entre 6×10^8 y 8×10^8 , el peso del recién nacido que nos permite optimizar la recogida es de 3280 g, y para un umbral de celularidad de 10×10^8 es de 3320 g. Esta variación es mínima y no es útil si el peso fetal se estima ecográficamente, puesto que los errores que se cometen en las estimaciones fetales se sitúan en los mejores casos entre el 5 y 10%. De todas formas, pensamos que este valor podría redondearse y establecer un criterio de peso del recién nacido de al menos 3300 g. La biometría fetal con la consiguiente estimación ponderal es una información de fácil acceso puesto que forma parte de la rutina de cualquier exploración obstétrica habitual próxima a la fecha probable de parto y nos serviría para orientar a la gestante de sus posibilidades como donante efectiva de sangre de cordón. Puesto que sí es posible pesar al recién nacido inmediatamente después del nacimiento, este dato podría decidir la recogida o no de esa unidad de SCU en función del peso obtenido. Con ello, a pesar de que se perderían donaciones aptas para el banco, disminuiríamos drásticamente el número de unidades recogidas y rechazadas antes del almacenamiento. Una desventaja de la aplicación de este criterio es que podría tener un efecto negativo en las donantes, frustrando sus expectativas de donación altruista. Además, el banco también necesita de unidades de SCU no aptas para el almacenamiento, para poder utilizarlas en control de calidad y protocolos de investigación. Por todo ello, debería quedar a criterio del banco la posible aplicación de este factor como criterio de inclusión/exclusión.

Otro de los aspectos que se ha demostrado que puede influir en la calidad de las unidades de SCU es el modo de recogida de dichas unidades.

Actualmente existen básicamente dos estrategias de recogida: a/ después de la expulsión de la placenta (ex útero), habitualmente realizada por el personal técnico del banco de cordón, y b/ antes de la expulsión de la placenta (in útero), a cargo del personal de la maternidad habitualmente matronas y obstetras. Ambas estrategias tienen sus ventajas y sus inconvenientes. Respecto a la recogida ex útero, desarrollada fundamentalmente por el banco de cordón de Nueva York, presenta como ventaja fundamental la no interferencia en el proceso del parto y como principal inconveniente, la mayor inversión económica que supone el tener personal técnico del banco en las maternidades colaboradoras. La estrategia in útero optimiza al máximo los recursos humanos, al ser el propio personal de la maternidad el responsable de las colectas. Sin embargo interfiere, aunque mínimamente, en el proceso del parto. Además existen resultados contradictorios en los estudios publicados, respecto a las diferencias en contenido de células y progenitores hematopoyéticos de las unidades recogidas de estas dos formas. Así, mientras algunos autores no encuentran diferencias entre ambos tipos de recogida⁶⁴, otros han demostrado que la recogida in útero permite recoger unidades con mayor volumen y celularidad, tanto en partos vaginales como en cesáreas. En nuestro estudio no hemos hallado diferencias significativas entre los dos tipos de extracción cuando incluíamos en el análisis todas las muestras recogidas. Si por el contrario, analizamos por separado el grupo control de gestaciones a término y sin patología, hemos encontrado que para los partos vaginales, la recogida in útero permite recoger unidades con mayor CNT, pero contenido similar de progenitores hematopoyéticos CD34⁺ y CFU. Para las cesáreas, las unidades recogidas in útero tienen idéntico contenido en CNT y en porcentaje de CD34⁺, pero mayor contenido en células CD34⁺ totales y CFU. Aunque los resultados no son claramente concluyentes, parecen apuntar a una mejor calidad de las unidades de SCU recogidas con la placenta in útero. La recogida ex útero es más tardía, puesto que hay que esperar un tiempo variable hasta la expulsión de la placenta y, posteriormente hay que trasladarla al lugar en el que se efectúa la recogida, habitualmente situado fuera del paritorio. Esta demora permite que se inicien los fenómenos de coagulación en los vasos placentarios y podría explicar la menor calidad de las unidades recogidas de esta manera. Por ello, y por la mayor optimización de los recursos que supone, preferimos la

estrategia in útero para la recogida de las unidades de SCU. Un dato que debemos destacar es que en ningún caso hemos observado efecto adverso alguno derivado de la donación de SCU, independientemente de la estrategia de recogida.

Como se explica en material y métodos y se ha venido comentando en párrafos anteriores de la discusión, existen unos criterios de exclusión/inclusión de las donantes de SCU. Estos criterios pueden dividirse en generales y obstétricos. Los criterios generales son los mismos que los establecidos para los donantes de sangre por el Consejo de Europa⁸¹, con mínimas modificaciones. Así, por ejemplo los donantes con hipotiroidismo en tratamiento sustitutivo se aceptan como donantes de sangre, pero no de SCU. El objetivo principal de la aplicación de estos criterios es proteger al futuro receptor de la unidad de SCU de la transmisión de enfermedades infecciosas fundamentalmente. Puesto que habitualmente se rechazan, se desconocen las características de las unidades de SCU procedentes de donantes con patologías, así como la repercusión que la mayoría de patologías pueden tener en el futuro receptor de la SCU. Por ello, nosotros hemos querido evaluar la calidad de las unidades de SCU procedentes de patologías sistémicas frecuentes, no malignas y que habitualmente se rechazan para el banco, como son el hipotiroidismo, LES, DMID y DMNID. Los criterios obstétricos establecidos por los estándares internacionales son mínimos, generales y se resumen en: embarazos y partos no complicados, rotura de membranas menor de 24 horas, gestaciones de al menos 34 semanas y embarazos de un solo feto. También hemos querido evaluar la calidad de las unidades de SCU procedentes de patologías obstétricas relativamente frecuentes, y que en la mayoría de casos también se rechazan. Para llevar a cabo este análisis hemos comparado las donaciones procedentes de patologías con las donaciones de un grupo control. Las características de las donaciones procedentes de prematuros ya se han comentado previamente.

Respecto a las patologías sistémicas evaluadas, nuestros resultados demuestran que las unidades de SCU procedentes de donantes con hipotiroidismo, LES, DMID y DMNID son similares en volumen y contenido de

CNT y precursores hematopoyéticos CD34⁺ a las del grupo control. Sin embargo, el grupo de pacientes con DMID posee un menor número de colonias tanto para las BFU-E (p= 0,036), las CFU-GM (p= 0,022) como para el número total de colonias (p=0,02). Esto mismo sucede si agrupamos la patología que podemos considerar con génesis vascular como son además de la diabetes, la hipertensión crónica o el Lupus. Puesto que el contenido en precursores hematopoyéticos cuantificados como células CD34⁺ es similar, podemos hipotetizar que estas patologías producen una alteración cualitativa y funcional, que no cuantitativa de los progenitores hematopoyéticos de las unidades de SCU recogidas. Además, estos resultados desestimarían nuestra hipótesis de trabajo ya que la patología obstétrica que asocia hipoxia crónica no ha demostrado incrementar la calidad de la sangre de cordón. De nuestros resultados se deduce que las donaciones procedentes de patologías como el hipotiroidismo y la DMNID pueden ser aceptadas para el banco puesto que su contenido en progenitores hematopoyéticos no es distinto al del grupo control. Las donaciones procedentes de pacientes con LES y DMID, sería adecuado rechazarlas para el banco puesto que tienen menor contenido en CFU. A pesar de ello, podrían recogerse en casos concretos para donaciones familiares.

En lo que se refiere a las patologías obstétricas evaluadas, las donaciones procedentes de embarazos con oligoamnios son similares a las del grupo control en volumen y contenido de precursores hematopoyéticos, por lo que estas donaciones pueden aceptarse para el banco. De hecho, el Banco de Cordón de la Comunidad Valenciana habitualmente las acepta. Tampoco hemos encontrado diferencias respecto al grupo control en las donaciones de SCU procedentes de embarazos con HTA y estados hipertensivos del embarazo, a excepción de una mayor cantidad de CNT post-procesamiento en los estados hipertensivos. Sin embargo el volumen y CNT previos son similares, así como la cantidad de células progenitoras hematopoyéticas CD34⁺. Hasta la fecha sólo hemos encontrado un estudio publicado en la literatura que evalúa las unidades de SCU procedentes de pacientes con patología obstétrica, concretamente preeclampsia y cuyos resultados difieren significativamente de los nuestros ⁸². Estos autores observan que en gestaciones afectadas por preeclampsia, el volumen, el contenido en CNT y el

total de células CD34⁺ es menor que en el grupo de gestaciones control. Aunque estudios previos habían sugerido que estos fetos podrían tener una hematopoyesis hepática disminuida⁸³, este estudio plantea que la preeclampsia produce una alteración en el patrón de citocinas y factores de crecimiento hematopoyéticos en el feto, que altera la actividad hematopoyética en la población de precursores hematopoyéticos. Aunque aconsejan excluir las donaciones procedentes de embarazos con preeclampsia, éstas unidades podrían ser recogidas en casos concretos para donaciones dirigidas a familiares. De acuerdo a nuestros resultados, nosotros no podemos justificar la exclusión de las donaciones con estados hipertensivos del embarazo por lo que estas donaciones podrían aceptarse.

Los estándares internacionales aconsejan que sólo se deberían recoger las unidades de SCU procedentes de partos con feto único. En caso de recogerse de partos múltiples, la recogida debe efectuarse después del nacimiento de todos los fetos. Nosotros quisimos averiguar si las donaciones procedentes de partos gemelares, contenían suficiente cantidad de progenitores hematopoyéticos y podrían ser aptas para el banco. Un dato que quisiéramos destacar es que los partos gemelares ofrecen de manera significativa un mayor número de células CD34⁺ en % (0.89 vs 0.34, $p < 0.001$). No hemos encontrado ninguna referencia respecto a las donaciones de partos múltiples en la literatura. Entendemos que no es habitual la donación de sangre de cordón en el contexto de un parto múltiple que por lo general está considerado como de riesgo y en el que en muchas ocasiones existe un componente de prematuridad. Quizá este último punto sea la explicación del porcentaje aumentado de progenitores hematopoyéticos CD34⁺. Como hemos comentado en párrafos anteriores de la discusión, la prematuridad se asocia a un mayor porcentaje de progenitores hematopoyéticos CD34⁺. Sin embargo, por su mayor dificultad y por evitar interferir en el proceso del parto, entendemos que en los embarazos gemelares debería evitarse la recogida de SCU.

En resumen, el tipo de parto no condiciona la calidad de las unidades de SCU y las donaciones procedentes de partos con características de estrés

pueden ser aceptados para el banco. El criterio de edad gestacional mayor o igual a 34 semanas es adecuado como criterio obstétrico de inclusión/exclusión de las donaciones de SCU. A este criterio, podría añadirse el del peso del recién nacido igual o mayor a 3300g con el objetivo de disminuir el número de unidades de SCU recogidas y rechazadas antes de la criopreservación. La estrategia de recogida in útero nos parece la idónea para el banco porque optimiza al máximo los recursos y proporciona unidades de SCU de mejor calidad que la recogida ex útero. Atendiendo exclusivamente a la calidad de las unidades, las donaciones procedentes de patologías como el hipotiroidismo y DMNID pueden ser aceptadas para el banco, mientras que las procedentes de LES y DMID deberían ser excluidas. Las donaciones procedentes de gestaciones con estados hipertensivos del embarazo también pueden aceptarse.

X. CONCLUSIONES

1. El peso de la placenta es el factor obstétrico que mejor define de forma global la calidad de la sangre de cordón para trasplante de precursores hematopoyéticos. Toda gestante con deseo de donación debiera ser previamente valorada ecográficamente para estimación de peso fetal y tomando éste como subrogado del peso de la placenta, orientarla como posible candidata para donación.
2. En aras de optimizar la labor de los Bancos de SCU, la decisión de incluirla como candidata para donación se podría tomar al pesar al recién nacido en paritorio, dicho punto de corte podría ser 3320 gramos.
3. La estrategia in útero para la recogida de las unidades de SCU, es preferible a la ex útero porque optimiza al máximo los recursos humanos y los resultados apuntan a una mayor calidad de la SCU independientemente de la vía del parto.
4. La vía o tipo de parto no modifica de forma significativa la calidad de las muestras de cordón por lo cual en este sentido toda donación es apta para el banco.
5. El líquido meconial no debe constituir un criterio de exclusión y deben ser aceptados para donación los partos considerados con estrés fetal.
6. El sexo del recién nacido no influye en la calidad de las muestras de la SCU.
7. La prematuridad por sí misma no debe ser un factor de exclusión, aunque parece razonable mantener el criterio de mayor o igual de 34 semanas como criterio obstétrico de inclusión/exclusión ya que a menor edad gestacional aunque el porcentaje de células CD34⁺ sea alto, es

probable que la cifra de CNT no supere el umbral mínimo establecido por el banco para almacenar la muestra.

8. Las diferentes patologías estudiadas no tienen una influencia clara sobre la calidad de la SCU, por lo cual no debieran ser excluidas en los criterios de selección de donantes (hipotiroidismo, DMNID, preeclampsia, HTA, oligoamnios), excepto las donaciones procedentes de pacientes con LES y DMID que han demostrado menor contenido en CFU.

9. La patología obstétrica que asocia hipoxia crónica no ha demostrado incrementar la calidad de la sangre de cordón, lo cual desestima una de nuestras hipótesis de trabajo.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Jacobson LO, Marks EK. Role of the spleen in radiation injury. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;70:7440.
2. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Sheldon E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951;12:197-201.
3. Till, JE, and EA McCulloch 1961 A direct measurement. of the radiation sensitivity of normal mouse bone. marrow cells. *Radiation Research*, 14: 213-222
4. Huss R, Lange C, Weissinger E. et al. Evidence of Peripheral Blood-Derived, Plastic-Adherent CD34^{-low} Hematopoietic Stem Cell Clones with Mesenchymal Stem Cell Characteristics *Stem Cells*, Vol. 18, No. 4, 252-260, July 2000
5. Bernstein, I.D., Andrews, R.G., Zsebo, K.M. Recombinant human stem cell factor enhances the formation of colonies by CD34⁺ and CD34⁺lin⁻ cells, and the generation of colony-forming cell progeny from CD34⁺lin⁻ cells cultured with interleukin-3 (IL-3), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), or granulocyte colony stimulating factor (G-CSF). *Blood* 1991;77:2316-2321.
6. McNiece IK, Langley KE and Zsebo KM (1991a) Recombinant human stem cell factor synergises with GM-CSF, G-CSF, IL-3 and epo to stimulate human progenitor cells of the myeloid and erythroid lineages. *Exp Hematol*, 19, 226–231.
7. Dorshkind K. Regulation of hemopoiesis by bone marrow stromal cells and their products. *Annu Rev Immunol* 1990;8:111–137.
8. Osawa M, Hanada K, Hamada H et al. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 1996;273:242-245.

9. Morel F, Galy A, Chen B et al. Equal distribution of competitive long-term repopulating stem cells in the CD34⁺ and CD34⁻ fractions of Thy-1^{low}Lin⁻/Sca-1⁺ bone marrow cells. *Exp Hematol* 1998;26:440-448.
10. Thomas ED, Storb R, Clift RA, et al: Bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 292: 895-902, 1975.
11. Deeg HJ, Storb R, Thomas ED, et al: Cyclosporine as prophylaxis for graft-versus-host disease: A randomized study in patients undergoing marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia. *Blood* 65: 1325-1334, 1985
12. Anderson, K.C., Barut, B.A., Ritz, J. et al. Monoclonal antibody-purged autologous bone marrow transplantation therapy for multiple myeloma. *Blood* 1991; 77:712-720
13. Bender JG, Lum L, Unverzagt KL, Lee W, Van Epps D, George S, Coon J, Ghalie R, McLeod B, Kaizer H, et al. Correlation of colony-forming cells, long-term culture initiating cells and CD34⁺ cells in apheresis products from patients mobilized for peripheral blood progenitors with different regimens. *Bone Marrow Transplant* 13: 479 - 485 (1994)
14. Campos, L., Bastion, Y., Roubi, N. et al. Peripheral blood stem cells harvested after chemotherapy and GM-CSF for treatment intensification in patients with advanced lymphoproliferative diseases. *Leukemia* 1993; 7:1409-1415.
15. Touraine JL, Bétuel H. Immunodeficiency diseases and expression of HLA antigens. *Hum Immunol* 1981 Mar;2(2):147-153.
16. Muller-Sieburg CE, Whitlock CA, Weissman IL. Isolation of two early B lymphocyte progenitors from mouse marrow: a committed pre-pre-B cell and a clonogenic Thy-1^{lo} hematopoietic stem cell. *Cell* 1986 Feb 28;44(4):653-662;

17. Brugger, W., Mocklin, W., Heimfeld, S. et al. Ex vivo expansion of enriched peripheral blood CD34+ progenitor cells by stem cell factor, interleukin-1 beta, IL-6, IL-3, interferon-gamma, and erythropoietin. *Blood* 1993; 81:2579-2584
18. Brazelton, T.R., Rossi, F.M., Keshet, G.I., and Blau, H.M. 2000. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*. 290:1775-1779.
19. Broxmeyer, H.E., Douglas, G.W., Hangoc, G. et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 86:3828-3832.
20. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AT, et al. Hematopoietic reconstitution in patient with Fanconi anemia from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321:1176-1178.
21. Kline RM. Whose blood is it anyway? *SC Am* 2001;284(4):30-37.
22. Zigova, T; Song, S; Willing, AE; Hudson, JE; Newman, MB; Saporta, S; Sanchez-Ramos, J; & Sanberg, PR: Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain. *Cell Transplantation*, 11:265-274, 2002
23. Milanes-Roldán MT, Fernández-Delgado N, Fundora T et al. Hemoglobinuria paroxística nocturna: Actualización. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, ene.-abr. 2003, vol.19, no.1, p.0-0. ISSN 0864-0289.
24. Curso de inmunología general. 2. Células del sistema inmune. Enrique láñez Pareja. Departamento de microbiología. Universidad de Granada.

25. Thomas ED, Storb R. Technique for human marrow grafting. *Blood* 1970 36:507-515
26. Diaz mediavilla J, Llorente L, Martinez R, Alvarez E, et al. Trasplante de células progenitoras de sangre periférica: Indicaciones y resultados en hematología. *Sangre* 1995, 40 (S2): 39-46
27. Diaz MA, Alegre A, Villa M et al. Allogenic peripheral blood progenitor cells (PBPC) transplantation in children with haematological malignancies *Br J Haematol* 1997; 96: 161-164
28. Moraga R. Factores obstétricos que influyen en la calidad de la sangre de cordón umbilical obtenida para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Tesis doctoral inédita, Universidad de Valencia, 2002.
29. Wagner JE, Kernan NA, Steinbach NI, Broxmeyer HE, Gluckman E. Allogeneic sibling umbilical-cord blood transplantation in children with malignant disease. *Lancet* 1995; 346:214-219.
30. Kurzberg J, Laughlin M, Michael MO, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 1996; 335:157-166.
31. Wagner JE, Rosenthal J, Sweetman T, et al. Successful transplantation for HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors: analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. *Blood* 1996; 88:795-802.
32. Rubinstein P, Carrier C, Adamson J, et al. New York Blood Center's program for unrelated placenta/umbilical cord blood transplantation: 243 transplants in the first 3 years (abstract). *Blood* 1996; (Suppl 1):557.

33. Gluckman E, Rocha V, Chasatand C, et al. Eurocord Group ad EBMT. Factors associated with engraftment and survival after allogeneic umbilical cord transplant: a report of Eurocord Transplant Group. Blood (en prensa).
34. Harris DT, Lo Cascio J, Berenson FS. Analysis of the alloreactive capacity of human umbilical cord blood: implications for graf-versus-host disease. Bone Marrow Transplant 1995; 15:17-23.
35. SA Cleaver, P. Warren, Mkern, CK Hurley, J. Keller, et al. Special report: Donor work-up transport of bone marrow. Recomendations and requirements fo a standarized practice throughout the world from the Donor Registries and Quality assurance working grups of the World Marrow Donor.
36. Association (WMDA) Bone Marrow Transplant 1997 Oct; 20(8): 621-629.
37. John M. Goldman. Special report. Bone marrow Transplant using volunterr donors-recomendations and requerements for a standardized practice throught the world WMDA-1994. Blood 1994: 84; 2833-2839.
38. World Marrow Donor Asociation international Standars for unrelated hematopoietic stem cell donor Registres. September 21, 2.000.
39. Carreras E, Brunet S, Ortega JJ, Monserray E, Sierra J, Urbano-Izpizua A. Manual de Trasplante hemopoyético 2ª edicion. Editorial Antares. 2.000.
40. Manual de acreditación para la extracción, procesado y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. JACIE (Joint Accreditation Committee of ISHAGE-Europe and EBMT). Mayo 1999.
41. National Marrow Donors Program. (NMDP) Donor Center Manual of operations. 1998
42. National Marrow Donors Program. (NMDP) Standars Edition 17, Sep1999.
43. International Standars for Cord Blood Collection, Procesing, testing, Banking, Selection and Release. NETCORD y FAHCT. First edition 2.000.

44. Real Decreto 411/1996 por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos.
45. Mayani H, Lansdorp PM. Biology of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells* 1998;16:153-165.
46. Sozos JF, Schenker JG. Human umbilical cords blood banking and transplantation. A state of the art. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive biology* 2000;90:13-25.
47. Stanworth S, Warwick R, Fehily D, et al. An international survey of unrelated umbilical cord blood banking. *Vox Sanguinis* 2001;80:236-43.
48. Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998;339:1565-1577.
49. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Exp hematol* 2000;28:1197-1205.
50. Sanz GF, Saavedra S, Jiménez C, Senent L, Cervera J, Planelles D, Bolufer P, Larrea L, Martín G, Martínez J, Jarque I, Moscardó F, Plumé G, Andreu R, de la Rubia J, Barragán E, Solves P, Soler MA, Sanz MA. Unrelated donor cord blood transplantation in adults with chronic myelogenous leukemia: results in nine patients from a single institution. *Bone Marrow Transplantation* 2001;27(7):693-701.
51. Querol S, Capmany G, Cancelas JA, Garcia J. Expansion of cord blood progenitor cells. *Bone Marrow Transplant.* 1998 Jun;21 Suppl 3:S77-80.
52. McNiece I, Briddell R. Ex vivo expansion of hematopoietic progenitor cells and mature cells. *Exp Hematol* 2001;29:3-11.

53. Lazzari L, Lucchi S, Rebutta P et al. Long-term expansion and maintenance of cord blood haematopoietic stem cells using thrombopoietin, Flt3-ligand, interleukin (IL)-6 and IL-11 in a serum-free and stroma-free culture system. *British journal of Haematology* 2001;112:397-404.
54. Shpall EJ, Quinones R, Hami L, et al. Transplantation of cancer patients receiving high dose chemotherapy with ex vivo expanded cord blood cells. *Blood* 1998;92(10)(suppl 1):646a.
55. Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *British Journal of Haematology* 2000;109:235-342.
56. de Wynter EA, Testa NG. Interest of cord blood cells. *Biomed Pharmacother* 2001;55:195-200.
57. Borrás FE, Matthews NC, Patel R, Navarrete C. Dendritic cells can be successfully generated from CD34+ cord blood cells in presence of autologous cord blood plasma. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26:371-6.
58. Donaldson C, Armitage WJ, Laundry V, et al. Impact of obstetric factors on cord blood donation for transplantation. *Br J Haematol* 1999;106:128-32.
59. Ballen KK, Wilson M, Wu J, et al. Bigger is better: maternal and neonatal predictors of hematopoietic potential of umbilical cord blood units. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:7-14.
60. Lim FTH, Scherjon SA, van Beckhoven JM, Brand A, Kanhai H, Hermans J, Falkenburg F. Association of stress during delivery with increased numbers of nucleated cells and hematopoietic progenitor cells in umbilical cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1144-51.
61. Solves P, Perales A, Moraga R, Saucedo E, Soler MA, Monleón J. Maternal, neonatal and collection factors influencing the haematopoietic content of cord blood units. *Acta Haematol* 2005;113(4):241-246.

62. Wong A, Yuen PM, Li K, Yu AL, Tsoi WC. Cord blood collection before and after placental delivery: levels of nucleated cells, haematopoietic progenitor cells, leukocyte subpopulations and macroscopic clots. *Bone Marrow Transplant* 2001;27(2):133-8.
63. Surbek DV, Aufderhaar U, Holzgreve W. Umbilical cord blood collection for transplantation: which technique should be preferred? *Am.J.Obstet.Gynecol* 2000;183(6): 1587-8.
64. Surbek DV, Schonfeth B, Tichelli A, Gratwoht A, Holzgreve W. Optimizing cord blood mononuclear cell yield: a randomized comparison of collection before vs after placenta delivery. *Bone Marrow Transplant* 1998;22(3):311-2.
65. Sparrow RL, Cauchi JA, Ramadi LT, Waugh CM, Kirkland MA. Influence of mode of birth and collection on WBC yields of umbilical cord blood units. *Transfusion* 2002;42:210-215.
66. Ballen KK. New trends in umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2005;105:3786-3792.
67. Sanz MA. Cord blood transplantation in patients with leukaemia-a real alternative for adults. *N Engl J Med* 2004;351 (22):2328-2330.
68. Aroviita P, Teramo K, Westman P, Hiilesmaa V, Kekomaki R. Association among nucleated cell, CD34+ cell and colony-forming cell contents in cord blood units obtained through a standardized banking process. *Vox. Sang.* 2003;84:219-227.
69. Aroviita P, Teramo K, Hiilesmaa V, Kekomaki R. Cord blood hematopoietic progenitor cell concentration and infant sex. *Transfusion* 2005;45:613-621.
70. Barker JN, Hons MBBS, Wagner JE. Umbilical cord blood transplantation: current state of the art. *Current Opinion in oncology* 2002;14:160-164.

71. Solves P, Perales A, Mirabet V, et al. Optimising donors selection in a cord blood bank. *E J Haematology* 2004;72:107-112.
72. Badoux E, Beguin Y, Cornu G et al. Circadian and seasonal variations of hematopoiesis in cord blood. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22, (1 Suppl): 12S-19S.
73. Elchalal U, Fasouliotis SJ, Shtockheim D et al. Postpartum umbilical cord blood collection for transplantation: A comparison of three methods. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 227-32.
74. Yamada T, Okamoto Y, Kasamatsu H et al. Factors affecting the volume of umbilical cord blood collections. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79: 830-33.
75. Surbek DV, Holzgreve C, Steinmann C, Hahn S, Gratwohl A, Wodnar-Filipowicz A, Tichelli A. Preterm birth and the availability of cord blood for HPC transplantation. *Transfusion* 2000;40:817-20.
76. Surbeck DV, Visca E, Steinmann C et al. Umbilical cord blood collection before placental delivery during cesarean delivery increases cord blood volume and nucleated cell number available for transplantation. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:218-21.
77. Grisaru D, Deutsch V, Pick M et al. Placing the newborn on the maternal abdomen after delivery increases the volume and CD34+ cell content in the umbilical cord blood collected: An old maneuver with new applications. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1240-3.
78. Pafumi C, Farina M, Bandiera S, et al. Differences in umbilical cord blood units collected during caesarean section, before or after the delivery of the placenta. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 54(2): 73-7

79. Li K, Kiu J, Yau FW, Wong A, Li CK, So KW, Chik KW, Tsang KS, Shing MMK, Yuen PMP. Human neonatal blood: stem cell content, kinetics of CD34+ cell decline and ex vivo expansion capacity. *British Journal of Haematology* 1999;104: 178-185.
80. International standards for cord blood collection, processing, testing, banking, selection and release. Netcord-Fahct First edition 2000.
81. Solves P, Perales A, Moraga R, Saucedo E, Soler MA, Monleón J. Maternal, neonatal and collection factors influencing the haematopoietic content of cord blood units. *Acta Haematol* 2005;113(4):241-246.
82. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation No R (95) 15. Council of Europe Publishing. 8th Edition. Strasbourg Cedex. January 2002.
83. Surbeck d, Danzar E, Steinmann C, et al. Effect of the preeclampsia on umbilical cord blood hematopoietic progenitor-stem cells. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:725-9
84. Surbeck Stalmach T, Karolyi L, Litchlen P, et al. Fetuses from preeclamptic mothers show reduced hepatic erythropoiesis. *Pediatr Res* 1998;43:349-54

XII. ABREVIATURAS

AEG: Adecuado a la edad gestacional

BFU-E: Unidades formadoras de colonias eritroides

BMDW: Bone Marrow Donors Word Wide

BSCU: bancos de sangre placentaria o de cordón umbilical

CE: Comunidad Europea

CFU-GEMM: Unidades formadoras de colonias mixtas

CFU-GM: Unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas

CMHs: Células madre hematopoyéticas

CNT: Celularidad nucleada total

CSF: Factores estimulantes de formación de colonias

DMID: Diabetes mellitus insulín-dependiente

DMNID: Diabetes mellitus no insulín-dependiente

EICH: Enfermedad de injerto contra huésped

FAHCT: Foundation for the Accreditation of Hemopoietic Cell Therapy

GEG: Grande para la edad gestacional

HTA: Hipertensión arterial

IL: Interleuquina

LES: Lupus eritematoso sistémico

MO: Médula ósea

NMDP: National Marrow Donors Program

NS: No significativo

PEG: Pequeña para la edad gestacional

PHSP: Precusores hematopoyéticos en sangre periférica

REDMO: Registro Español de Donantes de Médula Osea

RN: Recién nacido

ROC: Receiver Operating Characteristic

SCU: Sangre de cordón umbilical

TMO: Trasplante de médula ósea

USC: Unidad de sangre de cordón.

XIII. ANEXOS

- Anexo 1. Hoja de información sobre la donación de sangre de cordón umbilical. Procedimiento para su recolección.**
- Anexo 2. Consentimiento informado para la donación voluntaria de sangre de cordón umbilical.**
- Anexo 3. Indicaciones de búsqueda de progenitores hematopoyéticos procedentes de médula ósea y/o de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado.**
- Anexo 4. Cuestionario de autoexclusión para evaluación de donantes.**
- Anexo 5. Datos del parto y valoración pediátrica.**
- Anexo 6. Recogida de la sangre de cordón umbilical.**
- Anexo 7. Valoración pediátrica a los 40 días.**
- Anexo 8. Listado de afecciones tratadas con células madre de SCU**

ANEXO 1

Hoja de información sobre la donación de sangre de cordón umbilical

Después del nacimiento, el cordón umbilical y la sangre que contiene son desechados. Esta sangre contiene gran cantidad de células especializadas en la renovación permanente de células de la sangre y que trasplantadas a pacientes, generalmente niños, cuya médula ósea no funciona, permite obtener éxitos terapéuticos prometedores.

Los Bancos de Sangre de Cordón se han creado para confirmar la esperanza nacida con este nuevo tratamiento. Para llevar a cabo su tarea necesitan de la colaboración de muchas personas, por lo que les proponemos su participación, aceptando donar desinteresadamente sangre del cordón umbilical, después del nacimiento de su hijo, para cualquier paciente que precise un trasplante de este tipo.

Interés terapéutico de la sangre de cordón

Todos los años, miles de personas desarrollan una enfermedad grave de la médula ósea o nacen con alteraciones genéticas de la misma que comprometen su capacidad de vida. Para ellos, la única vía de curación pasa por un trasplante de médula ósea. La tasa máxima de éxito se produce cuando el donante de médula ósea es compatible con el paciente. Ese donante se busca habitualmente entre los hermanos del paciente, o a partir de una lista de donantes voluntarios. Lamentablemente, sólo un 30% de los casos encuentran un donante compatible.

La realización de un trasplante de médula ósea incompatible comporta riesgos muy importantes para el paciente. Sin embargo, las células de la sangre del cordón umbilical, dada su inmadurez, permiten la realización de trasplantes no totalmente compatibles con menor riesgo para el paciente.

Todo ello facilita el que un mayor número de pacientes se beneficien de la posibilidad de un trasplante.

La ventaja adicional de la sangre del cordón es que se puede disponer de ella en un Banco de Cordón, lo que facilita el que pueda ser trasplantada inmediatamente, evitando retrasos innecesarios.

Procedimiento de la donación de la sangre del cordón umbilical

La sangre del cordón umbilical se recoge después del nacimiento del niño y tras la sección del cordón umbilical. Para ello, se realiza una simple punción del cordón umbilical mientras que la placenta está todavía en el útero. *Sepa usted que esta recogida no comporta ningún peligro, ni para usted, ni para su hijo.*

Para la donación de la sangre del cordón resulta imprescindible realizar:

1. Una historia clínica detallada a la madre acerca de las posibles enfermedades infecciosas o de cualquier otro tipo que contraindiquen el empleo de la sangre del cordón.
2. La realización a la madre en el momento del parto, y opcionalmente después de los tres meses, de un análisis de sangre para descartar cualquier proceso infeccioso que pudiera ser transmisible a la sangre del cordón, en especial el test de la hepatitis B y C y el test del HIV del SIDA.
3. Un examen clínico de su bebé al nacimiento y opcionalmente después de los tres meses por un pediatra. Cualquier resultado patológico que resulte en los estudios realizados a la madre o al recién nacido con motivo de la donación de la sangre de cordón será necesariamente comunicado a la madre por el médico responsable.

La sangre del cordón umbilical será empleada para la realización de un trasplante a cualquier paciente anónimo del mundo que lo precise, sin otra preferencia que la mejor compatibilidad posible.

Los datos sobre la sangre del cordón serán incluidos de forma codificada en las bases de datos de nuestro banco y la información podrá ser intercambiada con otros datos similares de otros países. Todos los datos serán tratados de forma confidencial. Estos criterios de confidencialidad tienen como contrapartida la imposibilidad de saber cuándo su donación será utilizada, para qué paciente y con qué resultado.

No se entregará ninguna indemnización económica ni de ningún otro tipo por la donación de la misma.

La donación será destinada al tratamiento de cualquier paciente que lo necesite, sin otra preferencia que la mejor compatibilidad posible entre el donante y el receptor.

ANEXO 2

Consentimiento informado para la donación voluntaria de sangre de cordón umbilical

Fecha:

D./Dña.:

DNI Edad Con domicilio en

En la calle

N.o Código Postal Ciudad

Provincia Teléfono

Nombre del médico que informó

Declaro que:

— Entiendo que la sangre del cordón umbilical será utilizada para realizar un trasplante para cualquier paciente anónimo que así lo precise.

— Entiendo que la información referente a mi persona y a la de mi hijo/a será tratada de forma confidencial y codificada de forma que quede protegida mi identidad y la de mi hijo/a.

— Consiento que se realice un examen clínico a mi hijo en el momento del nacimiento y opcionalmente después de los 3 meses por un pediatra.

— Consiento que se me extraiga una muestra de sangre para la realización de los análisis exigibles (HIV-SIDA, hepatitis B y C, sífilis, toxoplasmosis y citomegalovirus) el día del parto y opcionalmente después de los 3 meses.

— Entiendo que cualquier resultado patológico que resulte en los estudios realizados a mi persona o a mi hijo/a con motivo de la donación

de la sangre de cordón me será necesariamente comunicado por el médico responsable.

— Entiendo que mi consentimiento no obliga a la maternidad a recoger la sangre placentaria si se considera que las circunstancias no son idóneas.

— Entiendo que no recibiré ninguna compensación económica ni de ningún otro tipo por la donación.

— Conservo la posibilidad de renunciar a este consentimiento hasta el nacimiento de mi hijo.

— He leído y comprendido toda la información dada, estoy satisfecha de la información recibida, he podido formular todas las preguntas que he creído convenientes y me han aclarado todas las dudas planteadas.

En consecuencia, doy mi consentimiento para la donación de la sangre del cordón umbilical.

Firma del médico que informó:

Firma de la donante:

ANEXO 3

Indicaciones de búsqueda de progenitores hematopoyéticos procedentes de médula ósea y/o de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado

Requisitos para iniciar la búsqueda de médula ósea y/o de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado para trasplante.

1. *Condiciones generales:*

1. Edad igual o inferior a 55 años.

2. Ausencia de donante familiar de médula ósea HLA idéntico o con una incompatibilidad menor.

3. En el caso de enfermedades congénitas, ausencia de alteraciones neurológicas.

4. Que los resultados esperables superen a los que se obtienen con otros procedimientos.

5. El médico responsable deberá especificar de forma razonada el tipo de búsqueda solicitada:

— *Médula ósea exclusivamente*

— *Sangre de cordón exclusivamente* (sólo en los casos de inmunodeficiencias congénitas y en leucemias agudas en segunda remisión completa con alto riesgo de recidiva).

— *Médula ósea y sangre de cordón de forma simultánea.* En este caso, la activación de la búsqueda de sangre de cordón se supeditará en general a la circunstancia de no hallarse un donante de médula ósea HLA idéntico en un plazo de tiempo adecuado a

la enfermedad y situación del paciente (excepto en los casos de inmunodeficiencias congénitas y en leucemias agudas en segunda remisión completa con alto riesgo de recidiva, en que, dada la necesidad urgente de trasplante, se considerará prioritaria la activación de la búsqueda de cordón).

2. Diagnóstico:

a) Enfermedades malignas:

1. Leucemia mieloide crónica en primera fase crónica.
2. Leucemia aguda linfoide o mieloide de alto riesgo en remisión completa.
3. Síndrome mielodisplásico tipo anemia refractaria con exceso de blastos o bien con alteraciones citogenéticas.
4. Mieloma múltiple.

b) Enfermedades no malignas:

1. Aplasia medular muy grave al diagnóstico o aplasia medular grave que no responda a la inmunosupresión. La aplasia medular grave queda definida de acuerdo con los criterios internacionalmente aceptados de Camitta y colaboradores. La aplasia muy grave se define de la misma manera, pero siendo la cifra de neutrófilos inferior a 200/mm³.

2. Enfermedades congénitas:

1. Anemia de Fanconi.
2. Síndrome de Hurler y otras enfermedades lisosomiales.

3. Inmunodeficiencias:

1. Síndrome de Wiskott Aldrich.
2. Severa combinada.

Nota: Estas indicaciones serán revisadas anualmente o antes, en caso de producirse, a juicio de los miembros de la Comisión, alguna modificación del conocimiento científico internacional de la suficiente entidad como para ser incorporado de manera inmediata.

ANEXO 4

Centro de extracción	Fecha de Formulario	
Nombre de la madre	Historia Clínica	Año nacimiento

Datos recogidos por:	Número de donante	Número de unidad de SCU
	M-	VLCC-

HISTORIA CLÍNICA	SI	NO
¿Goza usted de buena salud? Comentar		
¿Está tomando algún medicamento actualmente? Comentar		
¿Ha sido normal el embarazo? Comentar		
¿Ha tenido alguna enfermedad importante como cáncer, enfermedades hematológicas, hemorragias? Comentar		

ENFERMEDADES HEREDITARIAS	SI	NO
¿Alguien de su familia sufre alguna enfermedad hereditaria? Comentar		
¿Alguien en la familia de su pareja sufre alguna enfermedad hereditaria? Comentar		
¿El embarazo fue consecuencia de fecundación in vitro (FIV)?		
En caso de FIV, ¿el óvulo o el espermatozoides fueron donados?		

ENFERMEDADES INFECCIOSAS		
Durante los últimos 12 meses:	SI	NO
¿Ha recibido hemoderivados (sangre, plasma...)? Comentar		
¿Se ha hecho algún tatuaje, <i>piercing</i> o ha sufrido algún pinchazo accidental con agujas hipodérmicas? Comentar		
¿Ha recibido acupuntura con agujas no desechables? Comentar		
¿Ha recibido alguna inyección o vacunación? Comentar		
En alguna ocasión:		
¿Ha sido rechazada para la donación de sangre? Comentar		
¿Ha tenido hepatitis u otra enfermedad hepática? Comentar		
¿Ha sido informada de ser portadora de hepatitis B o hepatitis C? Comentar		
¿Ha recibido hormona del crecimiento o inyecciones para tratar la esterilidad? Comentar		
¿Ha sufrido alguna infección viral grave, tuberculosis o alguna enfermedad venérea? Comentar		
¿Ha recibido algún trasplante de órganos o tejidos? Comentar		

PROBLEMAS RELACIONADOS CON LOS VIAJES	SI	NO
¿Alguna vez ha tenido malaria o paludismo? Comentar		
¿Ha estado fuera de Europa en los últimos 5 años? ¿Dónde?		
¿Tuvo alguna vez fiebres después de algún viaje?		

DECLARACIÓN DE RIESGOS

Existen circunstancias en las que una persona tiene un riesgo aumentado para sufrir determinadas enfermedades infecciosas, entre las que se encuentran el SIDA y las hepatitis. En estas situaciones, la sangre de cordón puede estar también infectada por lo que NO DEBE ser utilizada.

Indique si usted o su pareja cumplen con cualquiera de los puntos siguientes. No es necesario que especifique el grupo, simplemente conteste si o no al final del párrafo.

Usted o su pareja:

- Es VIH positivo
- Es portador del virus de la hepatitis B o C
- Ha consumido alguna vez drogas por vía intravenosa
- Ha pagado o recibido dinero por mantener relaciones sexuales
- Es hemofílico
- Ha mantenido relaciones sexuales promiscuas (> 3 contactos sexuales con parejas distintas en el último año)
- Ha mantenido relaciones sexuales con personas pertenecientes a alguno de los grupos anteriores

SI

NO

Firma de la Donante:

ANEXO 5

DATOS DE LA MADRE (pegar etiqueta)			
DATOS DEL PARTO			
G / P / A *		Enfermedades infecciosas transmisibles (describir)	
		No	Sí
Antecedentes médicos de interés			
Fecha y hora de parto	Tipo de parto (vaginal, cesárea)	Duración gestación (sem / sem+d)	
Aspecto líq. amn.		¿Inducción para estimular el parto?	
Tiempo entre... (hh:mm)	... Rotura membranas y parto	... Duración del parto	Peso placenta (g)
Temperatura materna >38°C	Sí	No	Otros
Líquido meconial	Sí	No	Otros
Aloinmunización materna	Sí	No	Otros
Anemia materna	Sí	No	Otros
Sufrimiento fetal	Sí	No	Otros
VALORACIÓN			
<i>PEDIÁTRICA</i>			
Sexo recién nacido	Peso R.N. (g)	APGAR (1 min/5min)	Temperatura rectal (°C)
¿Alteraciones congénitas visibles?. Describir			
OBSERVACIONES (Anotar si ha habido alguna reacción adversa atribuible al proceso de recogida de la sangre de cordón)			

(*) Gestaciones / Partos / Abortos

Lista de envío al CTCV (marcar con una x)	Unidad de sangre de cordón	Datos del parto y Valoración pediátrica	
Consentimiento informado	Tubos de sangre materna	Cuestionario de autoexclusión y Etiquetas	

Fecha

Médico/Matrona responsable:	Número de donante	Número de unidad de SCU
M-	VLCC-	

ANEXO 6

<p>DATOS DE LA MADRE (pegar etiqueta identificativa)</p>

Fecha del parto	Hora del parto
Peso de la placenta antes de la recogida Bruto Neto Tara	Peso de la placenta después de la recogida Bruto Neto Tara
Longitud del cordón (cm)	
Peso de la recogida Bruto (con 25 ml de CPD-A) Tara (con 25 ml de CPD-A) Neto (sin anticoagulante) 45	
Incidencias durante la recogida	

IMPRESINDIBLES

Lista de envío al CTCV (comprobar) <i>Marque con una X el elemento completado</i>	<input type="checkbox"/>	Unidad de Sangre de Cordón	Datos del parto
	<input type="checkbox"/>	Tubos de sangre materna	Valoración pediátrica
	<input type="checkbox"/>	Registro de consentimiento	Cuestionario autoexclusión

NÚMERO DE DONANTE* M-		NÚMERO DEL CORDÓN*	VLCC-
--	--	---------------------------	--------------

* Estos números se asignarán en el CTCV

<p>Extracción realizada por:</p>

ANEXO 7

Centro de extracción	Fecha Nacimiento	Fecha de Formulario	Médico Pediatra
Nombre y apellidos del niño/a		Historia clínica	Origen étnico
Nombre de la madre		Historia Clínica	Año nacimiento

Desde el nacimiento, el niño/niña:	SI	NO
¿Ha gozado de buena salud?		
¿Ha sufrido alguna enfermedad importante como cáncer, convulsiones ...etc?		
¿Ha tenido ictericia?		
¿Ha tenido hepatitis?		
¿Ha estado hospitalizado/a alguna vez?		
¿Ha tomado o toma algún medicamento?		
¿Ha presentado signos de alguna enfermedad hereditaria?		

Exploración física:		
Respiratorio	Cardiovascular	Osteoarticular
Digestivo	Neurológico	

Observaciones:

Datos recogidos por:	Número de donante	Número de unidad de SCU
	M-	VLCC-

ANEXO 8

La terapia con células madre de sangre del cordón umbilical se ha usado ya en el tratamiento de las siguientes afecciones:

CÁNCERES

- Leucemia linfoblástica aguda
- Leucemia mieloblástica aguda
- Linfoma de Burkitt
- Leucemia mieloide crónica
- Leucemia mieloide crónica juvenil
- Leucemia mielocítica juvenil
- Liposarcoma
- Síndrome de mielodisplasia
- Leucemia mielocítica crónica
- Neuroblastoma
- Linfosarcoma
- Linfoma de Hodgkin
- Histiocitosis con células de Langerhans

SINDROMES DE INSUFICIENCIA DE MÉDULA ÓSEA

- Anemia aplástica grave
- Anemia de Diamond-Blackfan
- Disqueratosis congénita
- Anemia de Fanconi
- Trombocitopenia amegacariocítica
- Síndrome de Kostmann

HEMOGLOBINOPATÍAS/DESÓRDENES DE LA SANGRE

- Anemia de glóbulos falciformes
- β -talasemia (Anemia de Cooley)

ERRORES METABÓLICOS CONGÉNITOS

- Adrenoleucodistrofia

- Enfermedad de Batten (lipofuscinosis ceroidea neuronal heredada)
- Enfermedad de Gunther
- Síndrome de Hunter
- Síndrome de Hurler
- Enfermedad de Krabbe (leucodistrofia de células globoides)
- Enfermedad de Lesch-Nyhan
- Síndrome de Maroteaux-Lamy

INMUNODEFICIENCIAS

- Síndrome de Omenn
- Inmunodeficiencia combinada grave
- Displasia reticular
- Displasia del timo
- Síndrome de Wiskott-Aldrich
- Enfermedad linfoproliferante relacionada al cromosoma X
- Deficiencia de adhesión de leucocitos

OTRAS AFECCIONES

- Síndrome de Evans
- Linfocitosis hemofagocítica familiar
- Linfocitosis hemofagocítica asociada con el virus de Epstein-Barr
- Osteopetrosis