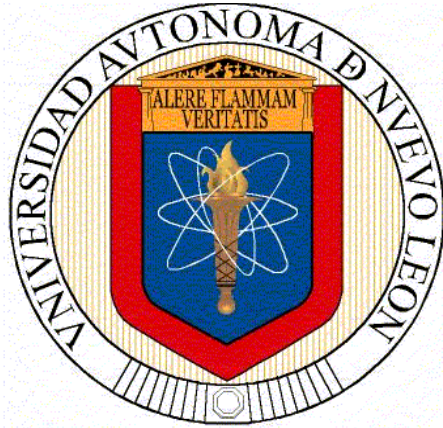


**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**



**CÉLULAS MADRE INTRATECALES AUTÓLOGAS
EN NIÑOS CON DAÑO CEREBRAL
HIPOXICO/ISQUÉMICO**

POR

DRA. MARÍA DEL CONSUELO MANCÍAS GUERRA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

MARZO 2015

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**



**CÉLULAS MADRE INTRATECALES AUTÓLOGAS
EN NIÑOS CON DAÑO CEREBRAL
HIPOXICO/ISQUÉMICO**

POR

DRA. MARÍA DEL CONSUELO MANCÍAS GUERRA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

MARZO 2015

**CELULAS MADRE INTRATECALES AUTOLOGAS EN NIÑOS CON
DAÑO CEREBRAL HIPOXICO/ISQUEMICO**

Aprobación de la tesis:

**Dr. med Alma Rosa Marroquín Escamilla
Director de la tesis**

**Dr. med. José Carlos Jaime Pérez
Miembro**

**Dr. med. Carlos Alberto Montero Cantú
Miembro**

**Dr. med. Manuel Enrique de la O Cavazos
Miembro**

**Dr. med. Fernando Montes Tapia
Miembro**

**Dr. med. Gerardo Enrique Muñoz Maldonado
Subdirector de Estudios de Posgrado**

*“Tú no puedes enseñar al hombre;
sólo puedes ayudarlo a
descubrir por sí mismo”.*

Galileo Galilei

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Al programa del Doctorado en Medicina de mi *alma mater*, por recordarme que hay arte más allá de la medicina.

A mis hijos postizos, quienes con su alegría me inyectan diariamente ganas de continuar por este camino.

A mi familia, quien es tal y como Dios quiso que fuera.

A Oscar, a quien amo y no sólo me acompaña en el camino, sino que me ha ayudado siempre más del 100% a seguir adelante.

A mis hermosos hijos Ana Cristina, Isabella y Mauricio, quienes son el motor, la gasolina y la razón de mi vida.

A la Virgen María quien, a pesar de no ser la mejor hija, no me suelta de su mano.

Y principalmente a Dios, quien por algún motivo que aún no logro descifrar, me puso aquí donde me puso.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESÚMEN	1
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	4
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	14
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	15
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	16
A. Diseño Metodológico	16
B. Tipo de Estudio	16
C. Población de Estudio	16
<i>a. Número de pacientes</i>	16
<i>b. Características de la población</i>	17

<i>c. Criterios de inclusión</i>	17
<i>d. Criterios de exclusión</i>	17
<i>e. Criterios de eliminación</i>	18
<i>f. Método de reclutamiento</i>	18
D. Descripción del Diseño	18
E. Evento de Interés y Diferentes Variables	20
<i>a. Criterios de éxito.</i>	20
<i>b. Criterios de fracaso</i>	20
F. Métodos de Evaluación	20
<i>a. Descripción de los métodos principales</i>	20
Evaluación inicial	20
Estimulación y recolección de la médula ósea	21
Procedimiento de laboratorio	23
Aplicación de las CNT por vía IT	25
Aplicación del paquete globular y CNT por vía intravenosa	26
Seguimiento y evaluaciones posteriores	27
Análisis estadístico	28
<i>b. Reproducibilidad</i>	28
<i>c. Variabilidad inter ensayo</i>	28
<i>d. Método nuevo o ya establecido</i>	29
<i>e. Frecuencia de evaluaciones</i>	29

<i>f. Evaluaciones cegadas o no cegadas</i>	29
<i>g. Variables evaluadas</i>	29

Capítulo VI

6. RESULTADOS	30
A. Evaluación inicial	30
B. Estimulación y recolección de la médula ósea	33
C. Complicaciones y eventos adversos	34
D. Seguimiento y evaluaciones posteriores	36
E. Evaluación neurológica	36

Capítulo VII

7. DISCUSIÓN	39
A. Abordaje seguro	40
B. Eficacia preliminar	44

Capítulo VIII

8. CONCLUSIONES	48
---------------------------	----

Capítulo IX

9. PERSPECTIVAS	50
---------------------------	----

Capítulo X

10. ANEXO 51

10.1 Carta de Consentimiento 51

Capítulo XI

11. BIBLIOGRAFÍA 57

Capítulo XII

12. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO 63

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Características demográficas.....	31
2. Etiología de la parálisis cerebral, tipo de parálisis motora y efectos adversos a corto plazo del tratamiento de la población estudiada.....	32
3. Infusión IT e IV de CNT de MO autóloga, estimulada con FEC-G recolectada y administrada en la población estudiada.....	34
4. Evaluación del IDB inicial, al mes y a los 6 meses del tratamiento.....	37

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Protocolo de actividades realizadas en el estudio.....	19
2. Diagrama de flujo del seguimiento de los pacientes incluidos en el protocolo.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

PC: Parálisis cerebral

C: Citocina

IT: Intratecal

IV: Intravenoso

CNT: Células nucleadas totales

MO: Médula ósea

FEC-G: Factor estimulador de colonias de granulocitos

IDB: Inventario del Desarrollo de Battelle

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

H/I: Hipoxia/isquemia

mL: Mililitros

EA: Efectos adversos

GMFCS: Sistema de Clasificación de la Función Motora Gruesa

CH: Células hematopoyéticas

CT: Células Tallo

MSC: Células mesenquimales

CMN: Células madre neurales

SNC: Sistema nervioso central

CTMO: Células tallo de la médula ósea

ELA: Esclerosis lateral amiotrófica

EM: Esclerosis Múltiple

LCR: Líquido cefalorraquídeo

NIH: Institutos Nacionales de Salud

µg: microgramo

Kg: Kilogramo

PG: Paquete globular

CB: Capa de blancos

BH: Biometría hemática

mg: Miligramos

CNT-IT: Células nucleadas totales administradas por vía intratecal

RPG-IV: Remanente de paquete globular administrado intravenosamente

SD: Desviación estándar

CAPÍTULO I

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La parálisis cerebral (PC) se puede presentar como consecuencia de una hipoxia perinatal severa, la cual deja un daño cerebral permanente en 50% de los recién nacidos prematuros que sobreviven este evento.

La terapia celular es una opción terapéutica potencial para la PC, la cual se cree que funciona a través de diversos mecanismos, los cuales incluyen la inmunomodulación a través de citocinas (C) y de la secreción de factores de crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 18 pacientes con PC con el fin de evaluar la seguridad de la aplicación intratecal (IT) e intravenosa (IV) de células nucleadas totales (CNT)

derivadas de médula ósea (MO) autóloga después de la estimulación con factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G).

Se evaluó clínicamente las áreas motora gruesa y fina, cognitiva, de comunicación, personal-social y adaptativa por medio de una prueba validada llamada Inventario del Desarrollo de Battelle (IDB). Se realizaron tres evaluaciones en cada paciente, la primera previa al procedimiento, y después a los 30 y a los 180 días. También se llevaron a cabo estudios de resonancia magnética nuclear (RMN) antes del procedimiento y uno de control 6 meses después del tratamiento.

El estudio fue registrado en [ClinicaTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01019733) (NCT01019733).

OBJETIVOS

Evaluar la seguridad del implante autólogo de CNT de MO en niños con lesión cerebral secundaria a un mecanismo de hipoxia/isquemia (H/I), y que, basado en el IDB, pueden mejorar en su desarrollo neurológico, lo que finalmente se puede traducir a su vez en mejoría de su calidad de vida [1, 13-16, 18-22, 29-30, 34-35].

RESULTADOS

Se implantaron intratecalmente una mediana de 13.12×10^8 de CNT (rango de 4.83 a 53.87), incluyéndose 10.02×10^6 de células CD34+ (rango de 1.02 a 29.9), en un volumen de 7 mL (rango de 4 a 10.5). El resto de las células obtenidas del aspirado de médula ósea fue administrado IV, 6.01×10^8 de CNT (rango de 1.36 a 17.85), con 3.39×10^6 de células CD34+.

Los efectos adversos (EA) agudos incluyeron cefalea, vómito, fiebre y rigidez de nuca, la cual ocurrió en 3 pacientes. No se documentó ninguna complicación seria.

Se observó un incremento total de 4.7 meses en la edad de desarrollo de acuerdo al IDB, incluyendo todas las áreas de evaluación (\pm SD 2.63). No se encontraron cambios en las RMN realizadas en el seguimiento de los 6 meses.

CONCLUSIONES

La aplicación subaracnoidea de CNT derivadas de MO autóloga en niños con PC es un procedimiento seguro. Los resultados obtenidos sugieren un posible incremento en la función neurológica, los cuales deberán ser probados con estudios comparativos.

CAPÍTULO II

2. INTRODUCCIÓN

La hipoxia/isquemia (H/I) es una alteración cerebral debida a la ausencia o disminución del suplemento de oxígeno y representa la principal causa de daño neurológico en recién nacidos. La H/I perinatal ocurre en 1-2 de cada mil nacidos vivos. Cerca del 50% de los recién nacidos pretérmino que sobrevivan quedarán con un daño cerebral permanente, debido a este tipo de lesión. Las secuelas neurológicas incluyen parálisis cerebral (PC), epilepsia y déficit cognitivo [1]. La PC es la más grave de estas secuelas y consta de 4 componentes principales: 1) trastornos en el movimiento y en la postura, 2) los cuales son el resultado de una anomalía cerebral, 3) adquirido en una etapa temprana de la vida y, 4) es una condición estática en el momento que se diagnostica [2].

Sin embargo, una amplia gama de enfermedades pueden causar PC como anomalías cerebrales del desarrollo, enfermedades genéticas y padecimientos traumáticos o infecciosos.

La PC puede ser dividida en dos grupos fisiológicos, con el fin de hacer un mejor diagnóstico y tratamiento, el tipo piramidal (término usado

predominantemente en pacientes con espasticidad), y el tipo extrapiramidal (corea, atetosis, distonía y ataxia). Para poder diferenciar los subgrupos de PC espástica, los sistemas de clasificación frecuentemente se refieren al lugar o topografía de la función motora anormal, donde la paraplejia, hemiplejia, triplejia, doble hemiplejia o cuadriplejia se refieren al involucro de las extremidades inferiores, extremidades superiores e inferiores de un solo lado, ambas extremidades inferiores y una extremidad superior, las cuatro extremidades o el involucro severo de las cuatro extremidades, respectivamente. Además, los niños con PC pueden presentar epilepsia, pérdida auditiva, discapacidad visual o autismo. Alrededor del 40% de los niños con hemiplejia tienen habilidades cognitivas normales, mientras que la mayoría de los niños con cuadriplejia tienen una discapacidad cognitiva severa. De acuerdo a lo reportado por diversos autores, no existe asociación entre el nivel cognitivo y la localización del daño cerebral (izquierdo o derecho).

Otros problemas relacionados en pacientes con PC es la alimentación. Más del 90% tienen una disfunción oral motora clínicamente significativa. Un tercio de los niños con cuadriplejia espástica requieren asistencia en la alimentación [2].

Debido a que existen diversos aspectos que tienen que ser descritos en esta patología, Blair y Stanley han propuesto hacer de la PC un término más específico, especialmente para estudios epidemiológicos. Por esta razón los investigadores deben: (1) definir la severidad usando una medida validada como el Sistema de Clasificación de la Función Motora Gruesa, "Gross Motor Function

Classification System”, (por sus siglas en inglés, GMFCS) [3]; (2) especificar el límite de mayor edad de los casos adquiridos después del nacimiento; (3) desarrollar criterios de inclusión y exclusión relacionados a anomalías cromosómicas, genéticas y metabólicas conocidas; (4) definir la edad de certeza del diagnóstico después de la cual uno no esperaría resolución del problema o cambio en el diagnóstico; y, (5) definir la edad mínima de inclusión de un niño en un registro o sistema de vigilancia en el caso de que el paciente muera antes de la confirmación del diagnóstico [4].

La severidad de la PC es altamente variable, por lo que debe ser descrita utilizando una herramienta validada, tomando en cuenta todas sus dimensiones. El Inventario de Desarrollo de Battelle, “Battelle Developmental Inventory” (IDB), está diseñado para niños entre 6 meses y 8 años de edad, y cuenta con un número de características deseables, incluyendo subgrupos de habilidades como: motora fina y gruesa, lenguaje receptivo y expresivo, habilidades adaptativas, personales-sociales y cognitivas. Cuenta además con un rango de corte y puntuaciones equivalentes a la edad, así como con estandarización internacional [5]. Esta escala es útil para abordar tanto a niños sanos como enfermos, y ha sido considerada como parámetro en la validación de nuevas escalas [6-8].

Etiológicamente, la mayoría de las variables involucradas en la PC son una combinación de factores que se presentan incluso antes de la labor de parto, implicando que ésta pueda no ser causada por una sola perturbación, sino por la interacción de diversas condiciones relacionadas. Debido a que el cerebro

responde a los insultos en un número limitado de forma, una de las hipótesis apunta hacia factores inflamatorios que causan daño en la sustancia blanca, proponiendo que la asfixia provocada por una infección materna (como del tracto urinario), y la corioamnioitis puedan estar relacionadas a la PC a través de un mecanismo común [2]. El peso extremadamente bajo y el peso muy bajo al nacer, la prematuridad, el embarazo múltiple, la reproducción asistida y las causas genéticas, son otros de los factores de riesgo prenatales y perinatales que pueden causar PC. Se han descrito dos asociaciones importantes: 1) leucomalacia periventricular con prematuridad, 2) daño en ganglios basales con encefalopatía por asfixia en neonatos a término [2]. La leucomalacia periventricular es la forma única más común de PC, y puede ser debida en parte a una pérdida perinatal de oligodendrocitos y sus precursores [9-12].

Es importante enfatizar que debido a que la evidencia acumulada sugiere que la mayoría de estos insultos ocurren en útero, su prevención puede ser difícil y, por lo tanto, se deben de desarrollar estrategias de regeneración para reducir la morbilidad asociada con estos eventos [1].

Por otro lado, el cerebro tiene la habilidad de usar otras áreas de la corteza cerebral con el afán de mantener su funcionalidad cuando es dañado por cualquier insulto. Este atributo es llamado plasticidad [1], y se ha observado tanto en niños como adultos. Existe evidencia que la recuperación después de una tromboembolia cerebral es debida, en parte, a esta plasticidad cerebral y a su reorganización [13].

Durante la última década, la biología de las células hematopoyéticas (CH) ha alcanzado nuevos horizontes, particularmente en padecimientos que conllevan un daño orgánico permanente y, donde aún no existen estrategias terapéuticas determinantes, de tal forma que ha generado interés en distintas áreas médicas. Un área donde la terapia celular ha generado esperanzas es en el campo de la neurología. Las propiedades reparativas, regenerativas y replicativas de las CH han demostrado que pueden ser un tratamiento potencial en diversos padecimientos neurológicos [14].

Hay diversos tipos de células madre o células tallo (CT) adultas, incluyendo las CH, o células CD34+, y las mesenquimales (MSC) o células CD133+. Estas pueden obtenerse de diversas fuentes como la médula ósea (MO), tejido adiposo y sangre de cordón umbilical [15].

Así mismo, estudios recientes han demostrado que el cerebro del adulto tiene la habilidad de producir neuronas nuevas ya que existen células madre neurales (CMN) en las áreas subventriculares y subgranulares del giro dentado, pero el cerebro neonatal pudiera tener una habilidad mayor para producir células nuevas que el mismo cerebro del adulto. La división celular es aumentada por daño isquémico, y las células recién producidas son integradas a la red neuronal y participan en la recuperación del déficit neuronal [13, 16, 17]. Las células de la glía, las cuales son también vulnerables a el daño hipóxico en el cerebro inmaduro, juegan un papel activo en la función cerebral. Además, la microglia aumenta la proliferación de las CMN y su subsecuente migración al área dañada por medio de la excreción de factores de difusión. Hayashi y sus colaboradores

investigaron como las CMN pueden diferenciarse no solo en neuronas, sino en células de la glía [13]. La sustancia blanca y sus residentes, progenitores de los oligodendrocitos, son también especialmente vulnerables al daño cerebral perinatal [1]. Por lo tanto, la neurogénesis por sí sola debe ser insuficiente para restaurar apropiadamente el desarrollo cerebral.

Es por todo esto que se han propuesto métodos para aumentar la reorganización cerebral a través de la estimulación de procesos endógenos por medio de la manipulación farmacológica o molecular, la terapia génica, las estrategias de rehabilitación y conductuales, y la provisión de nuevos sustratos para la recuperación como el trasplante celular [18].

Una reparación efectiva del sistema nervioso central (SNC) requiere no solo de crecimiento axonal provisto por la presencia de precursores neurales, sino también de células capaces de crear el microambiente que promueva el crecimiento y mielinización de las fibras nerviosas [19]. Existe evidencia acumulada que demuestra que la aplicación de CH en el cerebro puede incrementar factores que potencien el crecimiento de axones y que generen neuronas activas en el paciente. Las CH embrionarias tienen capacidad de tomar el fenotipo glial convirtiéndose en el almacén de células requerido por las neuronas (por ej. astrocitos, oligodendrocitos) una vez que han sido aplicadas en el sitio donde hubo daño [14]. Las CH indiferenciadas secretan una variedad de factores que estimulan el crecimiento axonal, promoviendo el arresto de la cicatriz glial, remplazando las estructuras no neuronales como los vasos sanguíneos, y mediando la respuesta inflamatoria. Este potencial reparativo de

las CH trasplantadas puede mejorar la evolución de enfermedades neurológicas. Pero no solo las CH embrionarias son capaces de producir esta mejoría, ya que se ha reportado recientemente que las células madre o tallo de la médula ósea (CTMO) son capaces de desarrollarse en astrocitos, microglia, macroglia y neuronas, tanto *in vitro*, como *in vivo* [20-23].

Existe diversas publicaciones científicas que demuestran en estudios animales este potencial reparativo descrito anteriormente. En el 2002, Li y sus colaboradores reportaron mejoría en la recuperación funcional en ratas después de dos semanas de la oclusión de la arteria cerebral media cuando a éstas se les había administrado una inyección intravenosa de CTMO humanas un día después del evento isquémico [24]. Hayashi y sus colaboradores, en el 2005, estimaron que, sin ningún tratamiento, el 0.2% de la neuronas dañadas son reemplazadas por nuevas células en ratas adultas previamente sanas después de haber sufrido un daño isquémico, mientras que la producción y migración de CMN en ratas recién nacidas era del 23.8% [13]. Felling y sus colaboradores, en el 2006, demostraron en un modelo de rata con PC que las CMN tienen el mayor potencial de regenerarse no solo en células neurales, sino también en microglia, necesarias para reconstruir completamente la función cerebral. Ellos también demostraron que después de un daño H/I, hay una mayor proliferación celular en la zona medial subventricular [1].

Por otra parte, pareciera ser que este tipo de tratamientos son más efectivos en pacientes con daño agudo, más que en pacientes con daño crónico. Sin embargo, es posible que las CT puedan actuar de manera favorable en un

contexto de daño crónico, reemplazando células nerviosas, aún cuando solo haya un reemplazo a pequeña escala, siendo éste significativo, de tal modo que haga las conexiones neuronales ya existentes más efectivas, o promoviendo la generación de nuevos vasos sanguíneos [25].

Se han llevado a cabo estudios clínicos que evalúan el uso de CT en adultos con diversas patologías neurológicas, incluyendo esclerosis lateral amiotrófica (ELA), daño cerebral isquémico, esclerosis múltiple (EM) y enfermedad de Parkinson. La mayoría de los estudios clínicos que se han realizado o que están llevándose a cabo en la actualidad se enfocan en el uso de células aplicadas por vía intravenosa (IV), sustentados en que éstas células tienen una capacidad de “homing” (por su nombre en inglés) o “anidación”, así como en la secreción de citocinas (C), factores de crecimiento y en mecanismos de reparación por medio de inmunomodulación [26-28].

Gordon y sus colaboradores, en el 2004, realizaron un estudio controlado doble ciego con placebo en 39 pacientes con Enfermedad de Parkinson, en quienes se llevó a cabo la implantación de células embrionarias dopaminérgicas, comparándose la respuesta clínica, encontrándose que quienes recibieron el implante mejoraron en sus habilidades motoras comparados con aquellos que solo recibieron placebo durante la cirugía, realizando evaluaciones posteriores a los 4 y 12 meses después del procedimiento [29].

En el 2005, Mehta y sus colaboradores reportaron las dificultades que tuvieron y los efectos colaterales después de la evaluación de 180 pacientes en quienes se llevó a cabo una infusión intratecal (IT) de CH de MO, encontrando

cefalea en 96 (53.3%), fiebre de baja graduación en 4 (2.2%) y meningismo en 2 (1.1%). La mejoría neurológica se demostró en 31.67% de los pacientes. La aplicación subaracnoidea de CH en enfermedades neurológicas tiene un mayor potencial y es relativamente seguro y fácil de realizar, mientras que se sugirió que aparentemente no hubo efectos secundarios a largo plazo [14].

Se ha encontrado que después de introducir CH en el espacio subaracnoideo de la médula espinal, éstas células pueden ser transportadas por el líquido cefalorraquídeo (LCR) más eficientemente a la zona del daño, cuando se compara con la ruta de aplicación IV, teniendo ésta última un acceso limitado al SNC, debido a la barrera hematoencefálica [30]. La administración IT de CH es segura, menos invasiva y un procedimiento conveniente que no involucra una cirugía [14]. Existen estudios publicados acerca de la seguridad de la aplicación de la células en el espacio subaracnoideo por medio de una inyección IT, con diversos tipos de células, diferentes métodos de procuración de las mismas y con distintas dosis administradas, todos ellos con rangos aceptables de efectos adversos (EA) [14, 27, 31, 32]. Algunos de estos estudios están enfocados en la investigación de tipos celulares estrictamente seleccionados e inducidos, incluyendo células MSC, CT preneurales, combinadas con técnicas de expansión *in vitro*. Sin embargo, estos procedimientos conllevan requerimientos tecnológicos avanzados, los cuales se encuentran fuera del alcance del mundo en desarrollo.

No se encontró en la literatura médica científica, ni en protocolos clínicos o reportes en donde se administren de manera IT las CH derivadas de MO

autóloga, estimulada con factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G) para el tratamiento de pacientes pediátricos con daño cerebral por H/I. Sin embargo, existe un marco teórico adecuado para sustentar que este tratamiento es seguro para los pacientes, y que puede inducir resultados superiores cuando se le compara con los tratamientos que existen en la actualidad, los cuales se basan solo en rehabilitación física y medidas paliativas. Aunado a esto, hay suficiente información para argumentar que este tratamiento será de utilidad en pacientes pediátricos, ya que podría ayudarles a mejorar su calidad de vida. Por esta razón, se consideró de suma importancia llevar a cabo un estudio prospectivo que describa los posibles beneficios y las complicaciones al usar esta terapia en pacientes de nuestro medio.

CAPÍTULO III

3. HIPÓTESIS

La aplicación intratecal de células nucleadas totales derivadas de médula ósea autóloga es segura y mejora la evolución neurológica en pacientes pediátricos con parálisis infantil, según el Inventario de Desarrollo de Battelle.

CAPÍTULO IV

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la seguridad del implante autólogo de células nucleadas totales de médula ósea en niños con lesión cerebral secundaria a un mecanismo de hipoxia/isquemia.

Objetivos específicos

- Evaluar la seguridad de la aplicación de células nucleadas totales (CNT) de médula ósea (MO) por vía intratecal (IT) en pacientes pediátricos con PC.
- Evaluar de forma preliminar la eficacia por medio del Inventario de Desarrollo de Battelle (IDB).

CAPÍTULO V

5. MATERIAL Y MÉTODOS

A. Diseño Metodológico del Estudio

- Experimental
- Longitudinal
- Descriptivo
- Prospectivo
- No comparativo
- No ciego

B. Tipo de Estudio:

- Cohorte

C. Población de Estudio:

- a. *Número de pacientes:* Se incluyeron 18 pacientes, a conveniencia del investigador, ya que es la primera vez que se evalúa la seguridad del método en este tipo de pacientes, por lo que no se

requiere un número grande de ellos. Los pacientes fueron clasificados en grupos dependiendo del IDB.

b. *Características de la población:* Se invitó a participar a los pacientes con diagnóstico de lesión cerebral secundaria a un mecanismo de H/I, con cerebro previamente sano (asfixia perinatal, ahogamiento, lesión por trauma craneal o paro cardiorrespiratorio de cualquier etiología), de 1 mes a 8 años de edad, sin importar la edad al momento de la lesión, el tiempo transcurrido posterior a la lesión, ni las terapias, diferentes a la nuestra, recibidas previamente.

c. *Criterios de inclusión:*

i. Pacientes con daño cerebral H/I, de 1 mes a 8 años de edad, sin importar la edad al momento de ocurrir el daño, el tiempo transcurrido posterior al daño o terapias recibidas previamente diferentes a la nuestra.

d. *Criterios de exclusión:*

- i. Pacientes con enfermedades neurodegenerativas o enfermedades autoinmunes.
- ii. Pacientes con infección activa en cualquier órgano o tejido al momento de entrar al estudio, durante el inicio de la estimulación con el FEC-G o antes de iniciar el procedimiento.
- iii. Pacientes que no firmen el consentimiento informado.

e. *Criterios de eliminación:*

- i. Pacientes con anomalías meníngeas.
 - ii. Pacientes que no acudieran a las valoraciones subsecuentes a los 30 y 180 días después del procedimiento.
 - iii. Pacientes que mueran de causas relacionadas a su enfermedad neurológica dentro de los siguientes 180 días después del procedimiento.
 - iv. Pacientes que sean diagnosticados con enfermedades neurodegenerativas o autoinmunes después de realizado el procedimiento.
 - v. Pacientes quienes no toleraran la estimulación con FEC-G, ya sea por mala aplicación, por la falta de ella o por reacciones adversas severas al mismo.
 - vi. Pacientes que decidan abandonar el estudio.
- f. *Método de reclutamiento:* A través de la página de internet de los Institutos Nacionales de Salud (NIH, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América, www.clinicaltrials.gov, siendo el lugar de referencia el Servicio de Hematología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”.

D. Descripción del Diseño:

Al reclutarse el paciente, se le clasificó dependiendo de la edad y puntuación global del IDB. Se realizó una evaluación de su estado físico

(tipo de PC, presencia o no de espasticidad y convulsiones). Se estimuló la MO con FEC-G a 10µg/Kg/día por 4 días consecutivos. Bajo sedación, en el quirófano ambulatorio de la sala de hemodinamia del Departamento de Radiodiagnóstico, el 5º día se realizó el aspirado de MO a razón de 8mL/Kg de peso. El paciente pasó a la sala de recuperación, mientras que la cosecha de MO se procesaba en nuestro laboratorio, separando el plasma, del paquete globular (PG) y la capa de blancos (CB) o “buffy coat” (por su nombre en inglés). Al terminar el proceso en el laboratorio, el paciente volvió a quirófano donde se transfundió el PG vía IV. Y nuevamente bajo sedación, se realizó una punción lumbar, se recolectaron 5 mL de LCR para su estudio citoquímico y cultivo bacteriológico. Posteriormente se infundió el concentrado de CNT por vía IT. Se realizaron evaluaciones a los 30 y 180 días con el IDB (comunicación, cognitiva, personal-social, motora y adaptativa) y se comparó con los datos iniciales.

La figura 1 muestra el cronograma de actividades realizadas en los pacientes incluidos en el estudio.

Figura 1. Protocolo de actividades realizadas en el estudio.



E. Evento de Interés y Diferentes Variables:

El evento de interés fue el procedimiento de terapia celular, el cual incluyó la estimulación de la MO con FEC-G, la cosecha de la MO, su procesamiento en el laboratorio y la aplicación de las CNT por vía IT.

a. Criterios de éxito:

- i. Se definió como procedimiento seguro si el paciente no presentaba efectos secundarios graves posterior a todo el procedimiento, tanto agudos, como crónicos.
- ii. Se definió como mejoría clínica el incremento estadísticamente significativo en la puntuación en las 5 diferentes áreas evaluadas por el IDB, además de la mejoría en el estado físico del paciente en cuanto a su espasticidad y convulsiones.

b. Criterios de fracaso:

- i. Presencia de complicaciones graves secundarias al procedimiento.
- ii. Disminución estadísticamente significativa o ausencia de cambios en la puntuación del IDB.

F. Métodos de Evaluación:

a. Descripción de los métodos principales.-

Evaluación inicial

Se les explicó detalladamente a los padres o tutores de los pacientes los riesgos de los procedimientos que estaban incluidos en el estudio y se solicitó su autorización por medio de un formato de consentimiento informado (Anexo 10.1., Capítulo X).

Previo al inicio de la estimulación de la MO, se realizó una evaluación exhaustiva a cada paciente, la cual consistió de un examen físico, cuenta celular sanguínea por medio de una biometría hemática (BH) y un perfil bioquímico de 24 elementos, (función renal y hepática), además de un perfil básico para donador de trasplante, el cual incluyó anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana, anticuerpos contra hepatitis B y C, y pruebas de tamizaje o cribado para detectar sífilis y brucelosis. Posteriormente, se realizó una evaluación neurológica por medio del IDB, la cual evaluó su edad mental en meses, así como su desempeño en 5 las áreas ya mencionadas. Además, se realizó una resonancia magnética nuclear (RMN) simple de cerebro.

Estimulación y recolección de la MO

Una vez terminada la evaluación general y firmado el consentimiento informado, se inició la estimulación para la multiplicación de CH dentro de la MO, para lo cual se administró de manera ambulatoria a todos los pacientes seleccionados 10 µg/kg/día por 4 días de FEC-G por vía subcutánea en días

consecutivos. La cuarta y última dosis se aplicó 24 horas antes del inicio del procedimiento.

Se realizó una nueva BH al paciente el día del procedimiento (5º día), y previo a la extracción de la MO con el fin de conocer el número de glóbulos blancos en la sangre periférica del paciente, lo cual indica la respuesta del paciente al FEC-G, antes de proceder a recolectar la MO.

La extracción se llevó a cabo en la sala de hemodinamia del Departamento de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, bajo sedación con propofol IV a 2.5 mg/kg, analgesia sistémica con buprenorfina a dosis de 5µg/kg y anestesia local con xilocaína al 2%. Se colocó al paciente en decúbito ventral y previa asepsia y antisepsia, se introdujeron agujas de “Jamshidi” pediátricas en ambas crestas ilíacas posteriores y se aspiró un volumen de 8 mL/kg de peso de MO, la cual se colocó en tubos cónicos estériles de 50ml. Estos tubos contenían solución anticoagulante, preparada en una campana de flujo laminar a base de heparina de 1,000uds y ACD (ácido-citrato-dextrosa) en una dilución 1:100. A cada tubo de 50ml se le agregaron 5ml de la mezcla de anticoagulante, para finalmente recolectar 45ml de MO por tubo. La cantidad de MO cosechada fue del 10% del volumen sanguíneo total de cada paciente, calculado a 80cc por kilogramo de peso. Al terminar el procedimiento de

cosecha de MO, el paciente pasó a la sala de recuperación donde permaneció durante el tiempo que duró el procesamiento de la MO en el laboratorio.

Procedimiento de laboratorio

En el laboratorio, en una campana de flujo laminar con nivel de seguridad clase II, la MO se filtró con filtros hemáticos de 180 μm para liberarla de espículas óseas y fragmentos de grasa. Se obtuvo una alícuota de 0.5ml para determinar la cantidad de leucocitos por medio de una BH procesada en un contador celular hematológico (Coulter T-890). La misma alícuota fue utilizada para realizar un análisis inmunofenotípico de células que expresen los marcadores CD34+, CD45+, y viabilidad celular (citometría de flujo - Beckton Dickinson FACS calibur). Se aisló la CB por medio de centrifugación a 2,590G por 15 minutos a 6°C. Esta separación del “buffy coat” permitió obtener una alta concentración de CNT. Nuevamente en la campana de flujo la laminar, inmediatamente después de terminar la centrifugación, se retiró el plasma y posteriormente se separaron la CB y el PG.

Con el fin de minimizar la contaminación eritrocitaria de la CB y, por consecuencia, el riesgo de EA secundarios a la irritación meníngea por hemoglobina libre, se lisaron los glóbulos rojos que permanecían en la CB. Esto se hizo por medio de la preparación

de una solución de lisis eritrocitaria hecha a base de una solución comercial de cloruro de amonio al 10X y agua estéril en dilución 1:10 (solución de lisis). Por cada 10ml de "buffy coat", se le agregó 40ml de la solución de lisis, dejándose en reposo por 45 minutos, y posteriormente se centrifugó a 290G por 10 minutos a 18°C. Al terminar, se descartó el sobrenadante en la campana de flujo laminar, mientras que el concentrado de CNT se lavó con solución salina, por medio de la reconstitución del botón celular con solución de cloruro de sodio al 0.9% hasta completar 50ml entre el botón y la solución salina, volviéndose a centrifugar a 290G por 10 minutos a 18°C. Al termino del centrifugado, se retiró la solución sobrenadante y se repitió el procedimiento de agregarle al botón celular cloruro de sodio al 0.9%, reconstituir, centrifugar y retirar el sobrenadante. Lo anterior se realizó con el fin de retirar cualquier excedente de cloruro de amonio que haya podido permanecer en el botón celular. Finalmente, se recolectó el botón celular en una jeringa de 10ml y se reconstituyó con solución salina para hacer una volumen final de 7 a 10ml. Se tomó una alícuota de 0.5ml de este producto final para determinar un conteo celular que incluya cantidad de eritrocitos y leucocitos, así como para realizar una nueva citometría de flujo y determinar la cantidad de células CD34+ y CD45+, viabilidad celular, además de un cultivo bacteriológico de control. Este procedimiento permitió obtener un

producto con un concentrado de CNT casi totalmente libre de eritrocitos en un volumen final muy pequeño, donde se encuentran las células progenitoras hematopoyéticas.

Aplicación de CNT por vía IT

La misma técnica de sedación descrita para la cosecha de MO fue utilizada para la aplicación IT de las CNT a través de una punción lumbar, en el mismo quirófano ambulatorio y bajo estricta monitorización durante todo el procedimiento. Para la aplicación IT se colocó al paciente en posición en decúbito lateral o sentado, utilizando una aguja Quincke calibre 25 para punción lumbar. Se localizó el espacio intervertebral entre la cuarta y la quinta vértebras lumbares y, previo aseo quirúrgico del área y con xilocaína al 2% como anestesia local, se introdujo la aguja suave y lentamente, hasta el espacio subaracnoideo. Después se dejó fluir 5 ml de LCR y se reinfundió el inóculo de CNT lentamente en 5 minutos. Las dificultades técnicas en cuanto a la localización del espacio subaracnoideo, número de intentos, y complicaciones posteriores a la punción se registraron para su evaluación posterior.

Es importante mencionar que previo a la infusión de las CNT por vía IT, se premedicó a los pacientes con el fin de minimizar cualquier EA. La premedicación consistió en omeprazol 1mg/kg,

como protección gástrica; ondansetrón 0.2mg/kg, como antiemético; ketorolaco 1mg/kg como analgésico, todos por vía IV, además de dexametasona de liberación prolongada a 0.25mg/kg por vía intramuscular, como antiinflamatorio de acción prolongada.

Todos los pacientes se mantuvieron en vigilancia hasta recuperación anestésica y se les dió indicaciones precisas para manejo de dolor y fiebre con ibuprofeno a 5mg/kg/dosis vía oral cada 6 a 8 horas, tratamiento antiemético con dimenhidrinato 5 a 10ml vía oral cada 6 a horas, e hidratación, todo de manera ambulatoria.

Aplicación del paquete globular y CNT por vía intravenosa

Después de la extracción, centrifugación y concentración de la CB, se recolectó el remanente del PG libre de plasma en una jeringa de 50ml y se diluyó (volumen:volumen) con solución fisiológica. Se tomó una alícuota de 0.5ml, para determinar por medio de una BH y citometría de flujo, la cantidad de CNT y células CD34+ remanentes en el PG, además de determinar el hematocrito del mismo. El PG ya diluido fue reinfundido al paciente por el personal de enfermería de manera IV durante el procedimiento de aplicación de CNT por vía IT. Esto se hizo con el fin de no descartar algún remanente de CNT que quedara en el PG y que se

aprovechara por vía IV, como se encuentra descrito en alguna literatura médica [26-28].

Seguimiento y evaluaciones posteriores

Cabe destacar que todo el procedimiento, desde la primera evaluación hasta las evaluaciones de seguimiento, pasando por la estimulación y el procedimiento de extracción y reinfusión de CNT se llevó a cabo de manera ambulatoria. Al momento del alta el día del procedimiento, se les indicaba a los padres que contactaran al personal del equipo médico o que acudieran al servicio de emergencias del hospital en el caso de presencia de fiebre, rigidez de nuca, náusea, vómito, fotofobia, dolor de espalda o cualquier otro síntoma que no cediera con los medicamentos prescritos al momento del alta. No se indicaron antibióticos con el fin de no enmascarar ninguna posible infección y se les pidió que tuvieran reposo absoluto las primeras 24 horas posteriores al procedimiento.

Se realizó una evaluación al día siguiente del procedimiento para revisar la evolución de los sitios de las punciones de MO y la punción lumbar, así como posibles efectos secundarios. Se realizó una llamada telefónica diariamente a los padres de los pacientes durante la primera semana para corroborar el bienestar del mismo. Posteriormente, se realizaron llamadas telefónicas semanales, con

el mismo fin, hasta el día 30 del seguimiento, momento en el cual se realizó la primera evaluación con el IDB. Después de esta evaluación, se hicieron llamadas mensualmente hasta el día 180, momento en el que se realizó el último IDB y la RMN de control.

Análisis estadístico

Los datos demográficos o cualitativos se expresaron en medias, con desviaciones estándar (SD), o medianas con rangos para los datos cuantitativos. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de los datos y la prueba “t de Student” para calcular el valor de p para datos distribuidos normalmente. De lo contrario, se utilizó la prueba de Wilcoxon para los datos que no estaban normalmente distribuidos. Se calcularon los cambios encontrados en las evaluaciones del IDB en las dos visitas de seguimiento. El análisis estadístico se realizó utilizando el software de SPSS version 20.0 para Windows. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

b. Reproducibilidad.- Si

c. Variabilidad interensayo.- La concentración tanto de CNT, como de CH en la MO varía de paciente a paciente, aún en pacientes con MO sana y que reciban la misma cantidad de FEC-G por kilo de peso.

d. Método nuevo o ya establecido.- Nuevo

e. Frecuencia de las evaluaciones.- Evaluación inicial 5 días previos al aspirado de MO, y evaluaciones a los 30 y 180 días posteriores a la aplicación IT de CNT.

f. Evaluaciones cegadas o no cegadas.- No cegadas.

g. Variables evaluadas.- las presentes en el IDB, la edad del paciente, la cantidad de CNT y células CD34+ recolectadas y administradas por vía IT e IV.

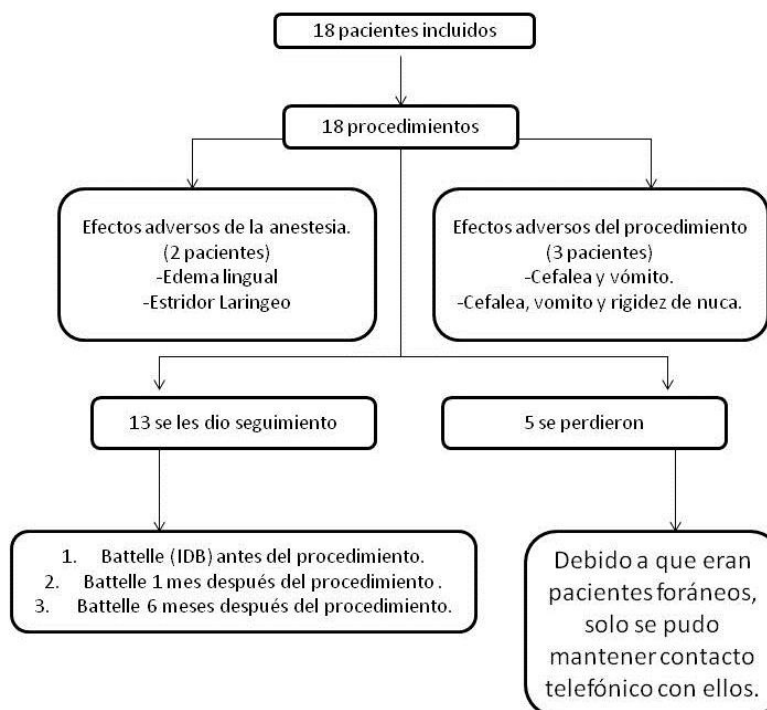
CAPÍTULO VI

6. RESULTADOS

A. Evaluación inicial

Se incluyeron en el estudio 18 pacientes entre Julio del 2009 y Diciembre del 2011 (Figura 2). Las características demográficas y clínicas de los mismos se muestran en la Tabla 1. Catorce pacientes eran originarios de los Estados Unidos de América, 2 de Canadá y 2 de la República Mexicana.

Figura 2. Diagrama de flujo del seguimiento de los pacientes incluidos en el protocolo



La mayoría de ellos recibían diferentes tipos de terapias de rehabilitación, con una mediana de duración de 4.5 horas por semana (rango, 3-7.5), las cuales incluían terapia física (16 pacientes) y terapia ocupacional (14 pacientes), entre otras. Además, continuaron con las mismas terapias durante el seguimiento. Dos pacientes habían recibido tratamiento con oxígeno hiperbárico, el cual fue suspendido por lo menos 6 meses antes de que fueran incluidos en el estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas de 18 pacientes con PC tratados con CNT de MO. Se incluye información sobre terapias previas.

Características	N	%
Sexo		
masculino	12	66.3
femenino	6	33.3
Edad en meses, mediana (rango)	43	(26.2-66)
Peso en kg, promedio (+- ds)	15.4	(+6.3)
Raza		
caucásicos	15	83.3
hispanos	2	11.1
negros	1	5.6
Etiología		
asfixia perinatal	14	77.8
asfixia posnatal	4	22.2
Terapias de rehabilitación		
física	16	88.9
ocupacional	14	77.8
verbal	13	72.2
visual	3	16.7
desarrollo	2	11.1
cámara hiperbárica	2	11.1

Las etiologías de la PC y las características iniciales de todos los pacientes se muestran en la Tabla 2. La leucomalacia periventricular fue el hallazgo más comúnmente encontrado en las RMN en 8 de los 18 pacientes, seguida por encefalomalacia quística en 3 de los 18, y un paciente tuvo una RMN normal en el estudio de imagen de inicio (Tabla 2.)

Tabla 2. Etiología de la parálisis cerebral, tipo de parálisis motora y efectos adversos a corto plazo del tratamiento de la población estudiada.

Núm. de paciente	Sexo	Edad (Meses)	Etiología de PC	Tipo de parálisis	Hallazgos en la RMN	Eventos adversos
1	M	46	APo	cuadriplejía	leucomalacia periventricular	-
2	F	11	APeN	cuadriplejía	encefalomalacia quística	-
3	M	94	APeN	triplejía	leucomalacia periventricular	cefalea, vómito y rigidez de nuca
4	F	24	APeN	cuadriplejía	leucomalacia periventricular	-
5	F	44	APo	hipotonía	dentro de límites normales	-
6	M	24	APo	paraplejía	anormalidad cortical difusa bilateral	-
7	M	27	APeN	cuadriplejía	encefalomalacia quística	-
8	M	58	APeN	hipotonía	hiperintensidad en Glóbo Pálido	-
9	M	90	APeN	hipotonía	leucomalacia periventricular	glositis
10	F	43	APeN	triplejía	encefalomalacia quística	estridor laríngeo
11	F	43	APeN	cuadriplejía	leucomalacia periventricular	-
12	M	50	APeN	paraplejía	leucomalacia periventricular	-
13	M	42	APo	triplejía	atrofia del cerebelo	-
14	F	29	APeN	cuadriplejía	leucomalacia periventricular	-
15	M	94	APeN	paraplejía	gliosis	-
16	M	36	APeN	triplejía	ectasia ventricular	-
17	M	16	APeN	cuadriplejía	gliosis	cefalea y vómito
18	M	92	APeN	cuadriplejía	leucomalacia periventricular	fiebre

Abreviaciones: M, masculino, F, femenino; APeN, asfixia perinatal; APo, Asfixia postnatal.

Dos pacientes eran alimentados a través de sonda de gastrostomía, y 16 (88.9%) no tenían control de esfínteres anal y/o uretral. Cuatro pacientes presentaban alguna discapacidad visual, y 4 discapacidad auditiva. Además, también se detectaron otros trastornos neurológicos: 8 pacientes (44.4%) tenían

actividad epiléptica, una de ellos, no controlada (más de 3 episodios al día). Ningún paciente contaba con válvula de derivación ventriculoperitoneal, ni evidencia de hipertensión intracraneal. No se encontraron anomalías en las evaluaciones iniciales de los 18 pacientes en lo que respecta a la BH, perfil bioquímico y en el panel de infecciones.

B. Estimulación y recolección de médula ósea

Después de la estimulación con FEC-G, la cuenta inicial de leucocitos en la sangre periférica de los pacientes incrementó de una mediana de $7.35 \times 10^3/\text{mL}$ (rango, 5.5-14.3) a $35.7 \times 10^3/\text{mL}$ (rango, 24.8-58.9) en el día 5 del procedimiento, el cual se realizó sin demora, según fue planeado en todos los casos. La depleción del PG en el concentrado de CNT (CNT-IT) que se administró intratecalmente, fue realizada exitosamente, con una mediana en el hematocrito de 0.7%, contra un 42.7% en el remanente de PG que se administró por vía intravenosa (RPG-IV). La concentración de neutrófilos en el CNT-IT fue de $145 \times 10^3/\text{mL}$, en contraste con $9.96 \times 10^3/\text{mL}$ en el RPG-IV. Los resultados obtenidos por citometría de flujo mostraron una mediana de CNT-IT de 13.12×10^8 totales (rango, 4.83-53.87), mientras que la dosis de células CD34+ infundidas por vía IT fue de 10.02×10^6 totales (rango, 1.02-29.9). Estas células fueron administradas directamente al espacio subaracnoideo en una mediana de 7mL de volumen (rango, 4-10.5). En el RPG-IV se infundieron 6.01×10^8 de CNT (rango, 1.3-17.85), con 3.39×10^6 de células CD34+. La viabilidad celular fue de 83.6% y 89.45% en los productos

administrados por vía IT e IV, respectivamente. Realizando la suma de la cantidad de células administradas tanto por vía IT, como por vía IV, se determinó que el método utilizado de concentración de CB presentó una efectividad de células CD34+ y de CNT de 62% (41.9-95.9) y 76.5% (20-94.7), respectivamente. La Tabla 3 presenta datos adicionales de los productos infundidos tanto por vía IT, como por vía IV.

Tabla 3. Infusión IT e IV de CNT de MO autóloga, estimulada con FEC-G recolectada y administrada en la población estudiada.

	Infusión IT de CNT		Infusión IV de MO	
	media	(rango)	media	(rango)
volumen, mL	7	(4–10.5)	43	(8–143)
total CNT, $\times 10^8 / \mu\text{l}$	13.12	(4.83–53.87)	6.01	(1.36–17.85)
hematocrito, %	0.7	(0.1–1.7)	42.7	(26.8–64.7)
neutrófilos, $\times 10^3 / \mu\text{l}$	145.5	(36.76–409.93)	9.96	(0.62–152.67)
*mononucleares, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	84.23	(52.26–235.36)	6.63	(0.36–126.57)
total de células CD 34+, $\times 10^6$	10.02	(1.02–29.9)	3.39	(1.04–9.4)
rango de células CD34+, %	0.81	(0.28–1.62)	0.45	(0.04–1.54)
viabilidad, %	83.6	(52–98)	89.45	(42–99.8)

*Se consideraron las células mononucleares como la suma de monocitos y linfocitos como son reportados los hemogramas completos.

C. Complicaciones y eventos adversos

Los EA que se presentaron durante la etapa de estimulación con FEC-G fueron febrícula no mayor de 37.9°C e irritabilidad. Ésta última, se ha relacionado, en otros estudios, a dolor óseo. Ambos ocurrieron en 4 pacientes y fueron tratados de manera eficaz con paracetamol (10mg/kg/dosis) cada 8 horas

hasta la resolución del síntoma. Durante el procedimiento, 5 pacientes (27.8%) presentaron efectos adversos. Dos casos fueron relacionados a la anestesia. El paciente número 9 presentó edema lingual sin compromiso de la vía aérea, presentando siempre saturación de oxígeno adecuada. Este evento ocurrió durante el procedimiento de recolección de MO. Fue tratado con hidrocortisona y clorfeniramina, resolviéndose en menos de media hora y sin requerir de hospitalización. El paciente número 10, contaba con historia de laringomalacia, presentando estridor laríngeo durante la administración de las CNT-IT. Fue referido a la sala de urgencias para monitorización y suplementación de oxígeno (6 L/min). Fue tratado con hidrocortisona y clorfeniramina, permaneciendo en observación durante 4 horas, sin requerir ningún tratamiento adicional. La terapia celular pudo ser finalizada exitosamente en ambos casos. Ninguno de los pacientes arriba mencionados presentó ninguna otra complicación. Tres pacientes (16.7%) presentaron EA agudos relacionados al procedimiento. El paciente número 3 refirió cefalea, vómito y rigidez de nuca dentro de las 48 horas siguientes. Fue ingresado a la sala de urgencias para ser hidratado. El paciente fue hospitalizado para permanecer en observación, mientras era tratado con líquidos intravenosos. No recibió antipiréticos ni antibióticos, ni se reportó fiebre. Presentó mejoría clínica y fue dado de alta 8 horas posterior a su ingreso. El paciente número 17 presentó cefalea y vómito 7 horas después del procedimiento, el cual fue tratado con ibuprofeno y dimenhidrinato por vía rectal, sin requerir hospitalizarse. Los síntomas se resolvieron en las siguientes 2 horas. El paciente 18 presentó fiebre 24 horas después del procedimiento,

siendo tratado únicamente con paracetamol, de manera ambulatoria, con una completa resolución del síntoma al día siguiente. No se requirió la realización de análisis del LCR y/o estudios de imagen, por lo que no se efectuaron en ninguno de los casos. Los cultivos microbiológicos realizados de control en los concentrados de CNT fueron negativos en los 18 pacientes.

D. Seguimiento y evaluaciones posteriores

Todos los pacientes completaron la meta de los 180 días de seguimiento. Trece pacientes (72.2%) fueron evaluados neurológicamente con el IDB al día 30 y con el IDB y una RMN al día 180. Cinco pacientes (número 5, 6, 8, 9 y 16) no acudieron a las evaluaciones del mes y los 6 meses debido a restricciones financieras y/o geográficas. Sin embargo, fueron monitorizados vía telefónica durante el seguimiento. Ninguno de éstos pacientes presentó EA agudos relacionados al procedimiento. Los padres no reportaron la aparición de EA crónicos, ni signos o síntomas clínicos de deterioro neurológico o alguna otra complicación en las evaluaciones subsecuentes.

E. Evaluación neurológica

La RMN reportó leucomalacia periventricular en 8 de los 18 casos (44.4%). Otras anomalías encontradas fueron la encefalomalacia quística, gliosis y atrofia cerebral. Se estimó que el daño cerebral que presentaban los pacientes, según las imágenes de RMN fue de una mediana de 50% (rango, 27-74), como resultado de la pérdida de la materia gris. Las evaluaciones iniciales

revelaron una media en la edad de desarrollo mental global de 15.5 meses (SD±20.9) en todos los pacientes evaluados (n=13). Las habilidades motoras presentaron puntajes bajos en la evaluación con una media de edad de 9.9 meses (SD±18.4). En el dominio personal-social se observaron medias de edad mayores de 21.5 meses (SD±19.8). Los resultados obtenidos en el IDB al inicio, a los 30 y 180 días se muestran en la Tabla 4.

A los 30 días después del procedimiento, se observó un cambio estadísticamente significativo en comparación con la evaluación inicial en 4 de las 5 áreas del desarrollo evaluadas, con excepción del dominio adaptativo

Tabla 4. Evaluación del IDB inicial, al mes y a los 6 meses del tratamiento.

	Adaptativo, Media ± SD	Personal- Social, Media ± SD	Motor, Media ± SD	Comunicación, Media ± SD	Cognitivo, Media ± SD	Edad de desarrollo Media ± SD
Inicial	13.9±19.1	21.5±19.8	9.9±18.4	16.5±27.2	13.4±22.1	15.5±20.9
1 Mes	15.5±20	26.4±25.8	12.7±21.5	18.6±27.8	16.9±26.7	18.5±23.3
Inicial vs 1 Mes Valor <i>P</i>	0.133	0.041	0.012	0.003	0.023	0.002
6 Meses	18.5±20.7	29.6±25.8	13.4±21.8	19.8±28.1	18.2±26.5	20.2±23.2
1 Mes vs 6 Meses Valor <i>P</i>	0.007	0.006	0.069	0.033	0.022	<0.001
Diferencia total de la Media	+4.6±3.2	+8.2±8.4	+3.5±3.8	+3.2±1.7	+4.8±4.8	+4.7±2.6
Diferencia global Valor <i>P</i>	<0.001	0.008	0.024	<0.001	0.007	<0.001

Los puntajes fueron evaluados en meses de edad de desarrollo en cada área del IDB. Solo los pacientes con las tres evaluaciones (n=13) fueron incluidos para el análisis.

^aSe utilizó la prueba *t* Student para calcular el valor de *p* para los datos distribuidos normalmente. De lo contrario, se utilizó la prueba de Wilcoxon.

^bPara datos distribuidos normalmente, se utilizó el modelo lineal generalizado para muestras repetidas. De lo contrario, se empleó la prueba de Friedman.

($p=0.13$). A los 6 meses del seguimiento en las 5 áreas, incluyendo la cognitiva, adaptativa, personal-social, motora y de comunicación, se observaron cambios estadísticamente significativos (Tabla 4). La media en el incremento en la edad del desarrollo fue de 4.7 meses ($SD\pm 2.6$). El dominio con el mayor incremento (8.2 meses, $SD\pm 8.4$) fue la personal-social, en contraste con la de comunicación, la cual mostró la menor ganancia en meses (3.23, $SD\pm 1.7$).

En relación a las RMN de seguimiento, no se observaron cambios estructurales comparados con las de inicio. Específicamente, se buscaron intencionalmente cambios identificables en las meninges, sistemas ventriculares o parénquima cerebral que pudieran ser atribuidos a la administración de las CNT.

CAPÍTULO VII

7. DISCUSIÓN

El cerebro del adulto y del neonato tiene la capacidad de producir nuevas neuronas debido a que existen CMN en las áreas subventricular y subgranular del giro dentado. Sin embargo, la neurogénesis por sí sola es insuficiente para restaurar apropiadamente el desarrollo en los pacientes con PC. Una reparación efectiva del SNC requiere además del crecimiento axonal provisto por la presencia de precursores neurales, también de un micro-ambiente adecuado que favorezca el crecimiento y la mielinización de las fibras nerviosas [19]. La multiplicación de las células progenitoras endógenas es inducida por el daño isquémico. Las células recientemente producidas pueden ser integradas en la red neuronal y participar activamente en la recuperación del déficit neurológico [16, 17]. Aún cuando se ha reportado que las células derivadas de la MO son capaces de desarrollarse tanto *in vitro*, como *in vivo*, en astrocitos, microglia, macroglia y neuronas, las expectativas que se presentaron en un inicio acerca de un replazo celular profundo a través de una transdiferenciación, fue menguado. Los datos reportados sugieren que los mecanismos involucrados

son más sutiles, que incluyen la secreción de citocinas y de factores tróficos, los cuales pueden estimular el crecimiento axonal, promover el arresto de la cicatriz glial, reemplazar estructuras no neuronales como los vasos sanguíneos, reducir la desmielinización y mediar la respuesta inflamatoria [21, 22, 33-35].

La finalidad de este estudio fue determinar la seguridad de la aplicación IT de CNT derivadas de MO autóloga después de la estimulación con FEC-G, a través del uso de un método sencillo y asequible, sin el uso de técnicas de selección, inducción o expansión *ex vivo*, abriendo la puerta a nuevos estudios que puedan definir el papel de este abordaje para el manejo de la PC.

A. Abordaje Seguro

La aplicación subaracnoidea de CNT derivadas de MO autóloga es segura y relativamente fácil de realizar. En el presente estudio se reportó la aparición de EA en 5 pacientes (27.8%). Aún cuando el porcentaje es mayor al esperado, 2 de estos eventos fueron relacionados a la anestesia, la cual es comúnmente usada en tratamientos alternativos para PC. Los 3 pacientes restantes (16.7%) tuvieron EA relacionados a la administración de las CNT por vía IT. La cefalea y el vómito fueron los signos y síntomas más comunes (n=2, 11.1%, respectivamente), seguidos de rigidez de nuca y febrícula (n=1, 5.6%, respectivamente). Estos efectos, particularmente la fiebre puede ser explicada por citocinas pirogénicas endógenas secretadas por los leucocitos, con la consiguiente inducción y transportación de ciclooxigenasa 2 dependiente de la prostaglandina E2 al área hipotalámica preóptica anterior, actuando en el centro

regulador de la temperatura corporal [36]. Es importante señalar que no se observó correlación entre los EA y la dosis celular administrada. Dos pacientes que tuvieron cefalea y vómito no recibieron dosis celulares más altas en comparación con otros (ellos recibieron 12.45×10^8 y 8.54×10^8 de CNT-IT). Sin embargo, el número tan pequeño de pacientes es insuficiente para abordar apropiadamente este punto. Las causas infecciosas como explicación de la fiebre, son argumentos poco probables debido a que los pacientes mejoraron en las siguientes horas después del inicio de la misma sin administrar ningún tratamiento con antibióticos, además de que todos los cultivos microbiológicos fueron negativos.

Nuestra incidencia de EA y las características clínicas de los mismos fueron similares a otros diversos estudios publicados anteriormente acerca del uso de terapia celular IT para PC y otras enfermedades neurológicas, como la Enfermedad de Parkinson, EM y ELA. Cefalea, fiebre, vómito y meningismo fueron también los EA prominentes en estos estudios, teniendo todos ellos pronta recuperación y sin secuelas a largo plazo [14, 28, 31, 32, 37, 38]. En el estudio publicado con más pacientes con enfermedades neurológicas en quienes se realizó terapia celular IT (180 pacientes), Mehta y sus colaboradores [14] reportaron un 53% de índice de cefalea con el uso de diversos tipos celulares, incluyendo CH derivadas de MO. Sin embargo, los autores sugirieron que esta alta incidencia podría haber sido causada por el uso de agujas de mayor calibre que con las que se realizaron las punciones lumbares. Karussis y sus colaboradores [28] también reportaron alta incidencia de cefalea (41%) con

el uso de MSC tanto por vía IV, como IT, en pacientes con EM y ELA, atribuyendo este síntoma a la punción lumbar por sí misma. En contraste, los pacientes incluidos en el presente estudio fueron parte de una población diferente, ya que ellos tienen una capacidad reducida de comunicación. Por lo tanto, la incidencia real de la cefalea y otros síntomas pudo haber sido subestimada. Por otro lado, es posible que la premedicación que se utilizó con corticosteroides haya coadyuvado en la prevención de la aparición de EA más frecuentes o severos. Otras complicaciones que han sido descritas son espasticidad, crisis convulsivas, dolor neuropático, mielitis y encefalopatía transitoria [27, 37]. En el presente estudio no se observaron este tipo de eventos durante la cohorte. Sin embargo, es importante enfatizar que la población celular administrada a los pacientes del presente estudio fue heterogénea o “no purificada”, la cual incluía neutrófilos, monocitos, linfocitos y una mínima cantidad de eritrocitos, además de una población celular no identificada CD34- y CD45-, lo que contrasta con publicaciones previas en pacientes con PC.

Hay estudios que utilizaron células de MO “no manipuladas” para pacientes adultos y pediátricos con padecimientos neurológicos, incluyendo un reporte de caso de una infusión de linfocitos de donador para una malignidad del SNC, refieren también la ausencia de EA mayores relacionados al procedimiento, sugiriendo que este abordaje es seguro [31, 39-43]. En el presente estudio se administraron dosis celulares más altas en comparación con otros (10^8 versus 10^6 de la mayoría de los estudios), siguiendo el razonamiento de administrar una dosis similar de CH (10^6). De manera interesante, e

independientemente de la dosis celular, no se presentó un incremento en la incidencia de efectos adversos, al igual que sucedió en otros estudios de pacientes con PC que usaron fenotipos celulares purificados o expandidos [14, 31, 32, 44].

Otra aspecto relevante al considerar el método utilizado en el presente estudio para la obtención de CNT, es que la estandarización de la dosis celular es difícil de conseguir debido que la recuperación de la CB se realiza por un método manual y no se hacen procedimientos de selección o separación celular. Aún cuando existe esta desventaja, se optó por la simplicidad debido a las restricciones financieras y, por consecuencia, las dosis celulares variaron de forma significativa (rango de CNT-IT, $4.83-53.87 \times 10^8$), aunque hay que considerar que este hecho también puede depender de la respuesta individual de cada paciente al FEC-G [45].

El surgimiento de EA tardíos meses o hasta años después, también debe ser tomado en cuenta. No existe evidencia definitiva de la seguridad a largo plazo de la citoterapia IT, y aún no hay establecidas prácticas de monitoreo óptimas para ello. Un estudio sobre la seguridad a largo plazo de la administración de células MSC en pacientes con ELA, con hasta 9 años de seguimiento, no reportó cambios clínicos o de imagen que fueran significativos [38]. En contraste con esto, se ha descrito anteriormente el desarrollo de tumoraciones con el tratamiento con CT [46]. Aunado a esto, las CT expandidas en cultivos han demostrado la capacidad de desarrollar anomalías cromosómicas y el potencial de transformación maligna [32]. Bajo estas

premisas, nuestra técnica posee una ventaja teórica, ya que las células infundidas no están cultivadas ni expandidas previamente, conociendo de antemano que potencialmente la administración de dosis de progenitores celulares puede ser menor, y por lo tanto puede disminuir la efectividad del procedimiento.

Otra posible ventaja es el costo, siendo de \$5,000.00 dólares americanos por procedimiento, en contraste con las células alogénicas expandidas *in vitro*, el cual ha sido estimado en un precio comercial de \$25,000.00 dólares por una sola dosis de 10^9 , en el caso de que se encuentre disponible la manufactura a grandes escalas [47].

B. Eficacia preliminar

La eficacia preliminar de este tratamiento fue evaluada como un objetivo secundario. Se observó en las evaluaciones de seguimiento una mejoría estadísticamente significativa. Sin embargo, no puede ser determinada con certeza la causa directa de este hallazgo por cualquier mecanismo que haya sido, esto debido al diseño del estudio. Se pueden considerar varias posibilidades: se utilizó una “doble” ruta de administración, no obstante se puede argumentar que fueron administradas intratecalmente dosis celulares considerablemente más altas, comparadas con las dosis celulares remanentes en el PG, el cual se administró por vía endovenosa (10.02×10^6 células CD34+ por vía IT versus 3.39×10^6 por vía IV), éstas últimas teniendo que ser distribuidas sistémicamente antes de alcanzar la barrera hematoencefálica. El

efecto placebo puede ser otra explicación para estos cambios, consideración importante que justifica una interpretación cautelosa. También debe ser considerado que el observador puede no ser objetivo, ya que un solo médico fue el responsable de las evaluaciones de los pacientes y es posible que exista una apreciación subjetiva al momento de realizar el IDB, como sucede en otros cuestionarios de evaluaciones neurológicas. Por otro lado, existen algunas ventajas en el uso de este inventario, incluyendo la cobertura de un amplio margen de edad y facilitando la comparación longitudinal de la misma medida clínica, permitiendo la determinación de trayectorias en el desarrollo y la valoración de la evolución. La mejoría más significativa se obtuvo en el dominio “personal-social” (+8.2 meses), mientras que la función motora, la cual consideramos que es el área que se puede evaluar fácilmente y de forma objetiva en este inventario, obtuvo unos de los menores incrementos (+3.53 meses) (Tabla IV). Es también importante mencionar que puede existir algo de desarrollo neurológico en los pacientes con PC, particularmente en aquellos menores de 6 años de edad, de tal forma que se pueden, por lo menos parcialmente, explicar estos hallazgos [48]. Sin embargo, los 4 pacientes de mayor edad también presentaron mejoría. Por otra parte, es interesante que el incremento en la edad del desarrollo que se obtuvo un mes después del procedimiento, se mantuvo e incrementó ligeramente en todos los pacientes en la visita de seguimiento de los 6 meses, incluyendo la función motora. Además, se observó un incremento global en la edad de 15.5 a 20.2 meses (Tabla 4).

La leucomalacia periventricular fue el hallazgo más comúnmente encontrado en las RMN tomadas al inicio, lo cual concuerda con estudios ya reportados [9-12]. La falta de cambios en las imágenes de RMN tomadas en la visita de seguimiento a los 180 días no es de sorprenderse, debido a que esto ya se encontraba reportado previamente [37, 38, 49]. Cualquier cambio que haya podido ocurrir no es observable debido al poco tiempo de seguimiento o no es detectable por las técnicas actuales de imagen, problema que será resuelto en un futuro con el uso de marcaje celular, imágenes moleculares y técnicas de difusión de tensores [44, 50, 51]. Son necesarios métodos más avanzados y específicos para detectar cambios estructurales y funcionales con este tipo de tratamientos. Es clave la implementación de técnicas de marcaje para identificar la migración y diferenciación de CT [52].

No se utilizaron otras técnicas para evaluar la eficacia neurológica debido a que la seguridad era el objetivo primario de este estudio y los costos fueron un factor limitante. También se ha reportado mejoría neurológica en otros estudios, incluyendo un incremento en la funcionalidad de los pacientes con EM, pacientes con daño en la médula espinal, distrofias musculares y PC [28, 31, 37]. Mehta y sus colaboradores [14] reportaron incremento en la funcionalidad en un 31.6% en pacientes con padecimientos neurológicos heterogéneos, incluyendo dos pacientes con PC, con mejoría en el tono muscular, en la rigidez y en la espasticidad. Sin embargo, estos hallazgos no son definitivos debido a que los estudios fase I carecen de diseño con un grupo placebo. En un estudio comparativo fase II publicado recientemente y realizado con el uso de CMN

expandidas *in vitro*, derivadas de MO y administradas intratecalmente a pacientes con PC, se encontró un aumento en la función motora gruesa después de 6 meses del tratamiento [32]. Recientemente Wang y sus colaboradores [49] reportaron mejoría gradual del déficit motor en 46 pacientes con PC con el uso de células MSC cultivadas y derivadas de MO, las cuales fueron administradas por medio de 3 a 4 punciones lumbares realizadas en diferentes tiempos, con o sin cirugía estereotáxica intraparenquimatosa. La mayoría de los cambios reportados en estos estudios son pequeños, aun cuando se puede argumentar que en el campo de la PC cualquier respuesta puede ser considerada una mejoría, debido a que es una de las pocas alternativas que intentan mejorar la función neurológica, la cual puede cambiar a su vez la calidad de vida tanto de los pacientes, como de sus cuidadores, así como reducir los costos asociados al cuidado de este padecimiento. Min y sus colaboradores [44] reportaron un estudio controlado con placebo en el que se observó mejoría en la función motora a través del uso de eritropoyetina y CT de sangre de cordón umbilical alogénicas administradas IV.

Un gran número de preguntas permanece aún sin resolver, además de estar emergiendo información clínica nueva acerca de la eficacia de la terapia celular para pacientes con PC.

CAPÍTULO VIII

8. CONCLUSIONES

Este método de aplicación de CNT para pacientes con PC puede ser una oportunidad viable y económicamente accesible como campo de investigación en el área de terapia celular en países en desarrollo.

Las limitaciones en este estudio incluyen la imposibilidad de lograr la estandarización de la dosis celular, el tamaño pequeño de la muestra de pacientes, la carencia de un grupo control, la evaluación no ciega y el período corto de seguimiento.

Algunas ventajas que tiene el presente estudio prospectivo incluye la forma ambulatoria del procedimiento, la técnica relativamente simple, los EA mínimos y su bajo costo. Además, el procedimiento puede ser llevado a cabo en un solo día, en comparación con estudios que utilizan diferenciación celular y expansión, lo cual conlleva más tiempo e incrementa su costo.

En conclusión, la administración de células nucleadas totales autólogas derivadas de médula ósea y estimuladas con factor estimulador de colonias de granulocitos en niños con parálisis cerebral es una intervención segura y bien

tolerada. Son necesarios estudios clínicos fase II para determinar si hay lugar para este procedimiento como tratamiento para pacientes con parálisis cerebral.

CAPÍTULO IX

9. PERSPECTIVAS

Las posibilidades de la terapia celular en este inexplorado campo de la ciencia son fascinantes. Sin embargo, hay un largo camino por recorrer antes de descubrir la combinación óptima de tipo(s) celular(es), técnicas de inducción y/o expansión, cantidad de tratamientos aplicables a cada paciente y la mejor ruta de administración con el mayor efecto benéfico (y menor riesgo).

CAPÍTULO X

10. ANEXO

10.1. Consentimiento informado.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
"Dr. José Eleuterio González"



CONSENTIMIENTO INFORMADO

UTILIDAD DEL TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS HEMATOPROGENITORAS EN EL TRATAMIENTO DEL NIÑO CON LESIÓN CEREBRAL SECUNDARIA A HIPOXIA/ISQUEMIA

Por este medio, el Servicio de Hematología hace una invitación para que hijo(a) participe en un estudio de investigación, el cual se le explicará a continuación. Antes de dar su consentimiento para participar de forma voluntaria, es importante que lea la siguiente información y haga tantas preguntas como sea necesario para asegurarse de que entiende todo lo que aquí se describe.

INVESTIGADOR

La Dra. María del Consuelo Mancías Guerra, investigadora principal y profesora del Servicio de Hematología, a quien puede encontrar en el Hospital Universitario "Dr. José E. González" con dirección en Av. Madero y Gonzalitos s/n Col. Mitrás Centro, C. P. 64460 y teléfono 83488510.

OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio está diseñado para valorar si la aplicación de células madre del mismo paciente a través de una punción lumbar (en la espalda baja), obtenidas previamente de su médula ósea, puedan ayudar a la mejoría de los pacientes con lesión cerebral por falta parcial de oxígeno al nacimiento. Los datos obtenidos con este estudio nos ayudarán a saber si a estos niños les es útil el aplicarles sus propios glóbulos blancos, en los cuales están las células madre. Estas células podrían o no ser benéficas en la recuperación total o parcial de su niño, quien presenta secuelas debido a esta falta de oxígeno mencionada anteriormente.

PROCEDIMIENTOS

Si usted decide y ofrece que su hijo(a) participe en este estudio de manera voluntaria, se le realizará una evaluación general, se le tomará una muestra de sangre obtenido de una vena de su brazo para realizar: biometría hemática, perfil bioquímico y perfil de donador de trasplante (HIV, hepatitis B, Hepatitis C y sífilis). Así mismo, se le realizará una resonancia magnética de cerebro y una prueba con el Inventario de Desarrollo Battelle para determinar su edad mental y su desempeño en 5 áreas específicas del desarrollo (cognitiva, personal-social, comunicación, motora y adaptativa).

Se aplicará factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G) por vía subcutánea a dosis de 10 mcg/kg/día por 4 días, la última aplicación será 24 horas previas al procedimiento. Este factor estimula la producción de células en su médula ósea. Existe la posibilidad de efectos secundarios como fiebre, dolor óseo, irritabilidad, etc., los cuales pueden ser tratados con paracetamol (Tylenol). (Ver sección de Riesgos más adelante).

Células madre para parálisis cerebral
Forma de Consentimiento: 13/06/2011, Versión 2.0
Iniciales del Participante: _____

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
 "Dr. José Eleuterio González"



Para la sedación se solicita mantener ayuno desde las 00:00 horas del día del procedimiento y hasta que éste termine. En ambos procedimientos se utilizará midazolam vía oral 0.5g/Kg, se vorane a concentración alveolar media de 2.05% y anestesia local con lidocaína al 1%.

El 5º día pasaremos al quirófano de hemodinamia del Servicio de Radiodiagnóstico de este hospital para que bajo sedación y medidas para evitar contaminación e infecciones, extraigamos la médula ósea desde su cadera de acuerdo a su peso (8cc/kg), sin sobrepasar 150cc. Además, ya sedado, se le tomará una pequeña muestra de sangre para determinar el aumento de glóbulos blancos debido al FEC-G.

Después de la extracción, su hijo(a) pasará a la sala de recuperación, donde se le administrarán por la vía venosa líquidos y medicamentos: un protector de la mucosa gástrica (omeprazol), un esteroide para evitar la inflamación por el procedimiento (hidrocortisona), y un medicamento para evitar vómito (ondansetrón). Contará con una enfermera en todo momento.

La muestra de médula ósea será llevada al Servicio de Hematología para que sea procesada en dicho laboratorio. En esta parte se separarán las distintas partes de los componentes de la médula ósea, se desechará el plasma y el concentrado de glóbulos rojos se reinfundirá vía intravenosa.

Será necesario realizar una punción lumbar (L3-L4), donde serán aplicadas las células. Este procedimiento conlleva riesgos como infecciones del sistema nervioso central (meningitis) y cefalea (dolor de cabeza). Esta parte del procedimiento se realiza bajo sedación y acostado de lado. Se utiliza anestesia local y una aguja, previo lavado quirúrgico del área. Se recolectarán 5cc de líquido cefalorraquídeo, el cual se encuentra dentro de la médula espinal y el cerebro, para su estudio y preservación, y después se reinfundirán las células (7-10 ml).

Se aplicará dexametasona intramuscular para disminuir la inflamación y dolor posterior al procedimiento y se colocarán parches en los sitios de punción. La vía venosa permanecerá desde el inicio del 1er procedimiento hasta la recuperación del 2º (aproximadamente 8 horas).

RIESGOS POSIBLES

Cualquier medicamento y/o procedimiento invasivo pueden provocar reacciones alérgicas o idiosincráticas que van desde la aparición de erupción mínima en la piel hasta reacciones anafilácticas, siendo imposible predecir en qué pacientes puedan ocurrir.

Debido a que la sangre proviene del mismo paciente, no se corre riesgo de incompatibilidad, sin embargo, ya que la sangre se procesa en el laboratorio, se corre un riesgo muy pequeño de contaminación, por lo que siempre se toman las medidas necesarias de esterilidad con el fin de evitar esta complicación, aún cuando no estamos exentos de que pueda ocurrir.

Además, ya que su hijo(a) se encontrará recibiendo los rutinarios de un procedimiento quirúrgico se encontrará con un acceso venoso permanente (canalizado para recibir medicamentos por la vena), por lo cual no será necesario tener que invadirlo (puncionar nuevamente venas) para aplicación de los glóbulos rojos, los cuales serán administrados vía intravenosa.

Células madre para parálisis cerebral
 Forma de Consentimiento: 13/06/2011, Versión 2.0
 Iniciales del Participante: _____





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
"Dr. José Eleuterio González"



Existe la posibilidad de sangrado y hematomas (moretones) en el sitio de punción, se tomarán las precauciones necesarias, como una adecuada presión sobre estos sitios (hemostasia adecuada). Dado el riesgo de sangrado, se debe evitar administrar drogas que alteren la coagulación al menos 5 días previos al procedimiento. Los padres/tutores deben comunicar al equipo médico/investigadores todas las substancias y/o medicamentos recibidos durante este tiempo. El FEC-G puede provocar efectos secundarios, que se desglosan a detalle a continuación:

-Reacciones Alérgicas: en el tratamiento inicial o subsecuente, han sido reportadas en menos de 1 de cada 4000 pacientes tratados con FEC-G. Éstas son generalmente caracterizadas por síntomas sistémicos en al menos 2 sistemas corporales, siendo los más comunes piel (erupción, urticaria, edema facial), respiratorio (dificultad respiratoria, sibilancias), y cardiovascular (hipotensión y taquicardia). Algunas ocurrieron durante los primeros 30 minutos tras la exposición inicial, y son más frecuentes vía intravenosa. La mayoría de los síntomas cedieron tras la administración de antihistamínicos, esteroides, broncodilatadores y/o epinefrina. Los síntomas recurrieron en más de la mitad de los pacientes que fueron reestimulados.

-Ruptura Esplénica: ha sido reportada tras la administración de filgrastim. Se debe evaluar a los individuos recibiendo filgrastim que reporten dolor en abdomen superior izquierdo y/o de hombro, buscando bazo crecido o su ruptura.

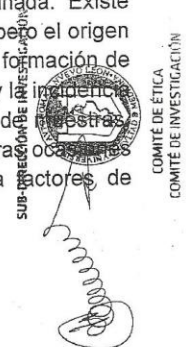
-Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA): Se ha sido reportado secundario al influjo de neutrófilos en sitios de inflamación pulmonares. Los pacientes tratados con filgrastim que desarrollen fiebre, infiltrados pulmonares o distrés respiratorio deben de ser evaluados por un posible SDRA. Si éste ocurre, deben recibir tratamiento médico para esta condición.

-Hemorragia Alveolar y Hemoptisis (sangrado por la nariz): La hemorragia alveolar manifestada como infiltrados pulmonares y hemoptisis que requiere hospitalización ha sido reportada en donadores sanos sometidos a movilización de progenitores de sangre periférica. La hemoptisis cedió posterior a la suspensión del filgrastim.

-Desorden de Células Falciformes: Crisis severas de células falciformes (algunas veces resultando en muerte) han sido asociadas al uso de filgrastim en pacientes con este padecimiento. Solamente médicos con entrenamiento calificado o experiencia en el tratamiento de estos pacientes puede prescribirles filgrastim, considerando los riesgos y beneficios potenciales.

-Inmunogenicidad: Existe un como en cualquier proteína de uso terapéutico. La incidencia de la producción de anticuerpos en pacientes recibiendo filgrastim no ha sido determinada. Existe información que sugiere que un pequeño grupo de pacientes desarrolla anticuerpos, pero el origen y la especificidad de éstos no ha sido estudiada adecuadamente. La detección de la formación de anticuerpos es altamente dependiente de la sensibilidad y especificidad del ensayo, y la incidencia de positividad es influenciada por varios factores, incluyendo el tiempo y manejo de otros medicamentos concomitantes y enfermedad subyacente. Han sido reportadas en raras ocasiones disminución en las células sanguíneas debidas a la respuesta de anticuerpos a factores de crecimiento exógenos.

Células madre para parálisis cerebral
Forma de Consentimiento: 13/06/2011, Versión 2.0
Iniciales del Participante: _____





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
 "Dr. José Eleuterio González"



Teóricamente, existe la posibilidad de que un anticuerpo dirigido al filgrastim cause reacción cruzada con el FEC-G endógeno, resultado en una neutropenia mediada por reacción inmune; sin embargo, esto no ha sido reportado. Pacientes que desarrollen hipersensibilidad al filgrastim pueden presentar alergia o reacciones de hipersensibilidad a otras proteínas derivadas de *E. coli*.

-Vasculitis Cutánea: En la mayoría de estos casos, la severidad de la vasculitis cutánea fue moderada o severa. La mayoría de los reportes involucraba pacientes con tratamiento a largo plazo por vía subcutánea. Muchos pacientes pudieron continuar con filgrastim a una dosis menor.

-Interacción Medicamentosa: No han sido completamente evaluadas. Drogas capaces de potenciar la liberación de neutrófilos (litio), deben de usarse con cautela. Han sido encontrados cambios óseos transitorios en la imagenología debido a la aumentada actividad hematopoyética de la médula ósea. Esto debe tomarse en consideración al interpretar resultados de radiología.

-Carcinogénesis, Mutagénesis e Infertilidad: El potencial carcinogénico del filgrastim no ha sido estudiado. El filgrastim no induce mutaciones genéticas bacterianas con o sin la presencia de una droga metabolizadora del sistema enzimático. No se ha observado ningún efecto en la fertilidad de ratas, hembra o macho, o en su gestación a dosis de hasta 500 mcg/Kg.

BENEFICIOS POTENCIALES DE ESTA INVESTIGACIÓN

Parece ser, según otros estudios de investigación, que las células madre pueden ser útiles en la regeneración de ciertos tejidos, incluyendo al sistema nervioso central (cerebro). Actualmente no se cuenta con medidas curativas para secuelas neurológicas debidas a falta de oxígeno, como la parálisis cerebral, y el tratamiento consiste solo en medidas de apoyo y rehabilitación. Por este motivo tenemos que echar mano de otros recursos que se encuentren a nuestro alcance. Dentro de estos recursos se encuentran el uso de las células madre propias del paciente que se encuentran en la médula ósea, y debido a que se le transfundirá parte de su misma sangre no se corre riesgo de tener complicaciones por falta de compatibilidad sanguínea, corriendo un mínimo riesgo de menos del 1% de contraer alguna enfermedad infecciosa, y teniendo la posibilidad de que el pronóstico a corto, mediano y largo plazo de su hijo(a) sea mejor.

CONFIDENCIALIDAD Y ALMACENAMIENTO DE DATOS

Con el fin de que los nombres de tanto usted como su hijo(a) permanezcan en estricta confidencialidad, cada paciente se identificará exclusivamente con el número de expediente, de tal forma que sus nombres queden siempre en anonimato. Cabe mencionar que los datos recabados de este estudio se utilizarán exclusivamente para fines del mismo, y que no se darán a conocer a nadie que no se encuentre directamente involucrado con el estudio, es decir, los investigadores arriba mencionados y sus asesores exclusivamente considerando en todo momento el uso del número de expediente y las iniciales de los pacientes y nunca del nombre del involucrado. Puede ser posible que se tome video del "antes" y del "después" de los procedimientos realizados en el paciente, ya que éstos nos pueden servir para evidenciar la mejoría, si es que la hubiera, en los pacientes.

Células madre para parálisis cerebral
 Forme de Consentimiento: 13/06/2011, Versión 2.0
 Iniciales del Participante: _____

COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
 "Dr. José Eleuterio González"



PARTICIPACIÓN EN EL RETIRO DEL ESTUDIO

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Como participante, usted tiene derecho a dejar de participar en este estudio de manera temporal o permanente en cualquier momento, y sin que por este motivo se les vaya a dejar de prestar el servicio médico normal. Para retirarse del estudio por favor contacte a la Dra. María del Consuelo Mancías Guerra en el teléfono 83488510.

PREGUNTAS SOBRE LA INVESTIGACIÓN

Si tiene preguntas acerca de la investigación, por favor hable con la Dra. María del Consuelo Mancías Guerra, al Servicio de Hematología en el teléfono 8348 8510.

EN EL CASO DE LESIÓN

Es poco probable que la participación en este proyecto traiga como resultado un daño a los participantes, ya que se utilizarán su propia sangre. Si existe una complicación secundaria al estudio, se le dará la atención necesaria en el mismo Hospital Universitario "Dr. J. E. González", sin embargo, los gastos que cualquier complicación generen no se encuentran incluidos en la cuota que pagará en un inicio.

COSTOS

El costo será definido por una trabajadora social, respaldado por un estudio socioeconómico individualizado.

RAZONES PARA LA EXCLUSIÓN DE ESTE ESTUDIO

Si los exámenes de laboratorio y/o gabinete indicaran que el (la) paciente no es candidato, debido a que presente alteraciones en los resultados de estas pruebas, o que represente un riesgo para el paciente, el mismo tendrá que abandonar el estudio.

Este proyecto ha sido revisado y aprobado por el Comité de Ética y el Comité de Investigación de la Facultad de Medicina y del Hospital Universitario "Dr. J. E. González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Si usted cree que hay alguna violación a sus derechos como paciente que participa en un estudio de investigación, puede usted comunicarse con el Presidente del Comité.

Dr. José Gerardo Garza Leal
 Presidente del Comité de Ética
 Teléfono de contacto: 8329 4050 ext. 2870-74

Se le han dado la oportunidad de hacer preguntas y éstas han sido contestadas a su satisfacción. Si firma abajo indica que está de acuerdo en participar como voluntario en este estudio de investigación.

Células madre para parálisis cerebral
 Forma de Consentimiento: 13/06/2011, Versión 2.0
 Iniciales del Participante: _____





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
'Dr. José Eleuterio González'



PARTE 2: FIRMAS QUE DOCUMENTAN EL ACUERDO

ACUERDO

Su consentimiento para participar en la investigación será voluntario e informado. Si usted está de acuerdo en participar y si sus preguntas han sido contestadas a su entera satisfacción, usted deberá firmar esta forma. Una vez firmada la forma, usted está de acuerdo en participar en este estudio. En caso de que usted se rehúse a participar, usted podrá retirarse sin pérdida de alguno de los beneficios médicos. Una vez que usted haya consentido, usted tendrá aún el derecho de retirarse en cualquier momento sin que esto afecte su atención médica. Para retirarse, lo único que usted deberá hacer es informar a su médico de su decisión. Se le ha proporcionado una copia de esta forma para quedársela y para que haga referencia a ella cuando sea necesario.

Fecha Firma de la madre/padre del paciente Nombre en letra de molde

1 Fecha Firma del primer testigo Nombre en letra de molde

Relación del Primer Testigo con el paciente Dirección

2 Fecha Firma del segundo testigo Nombre en letra de molde

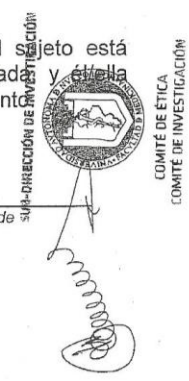
Relación del Segundo Testigo con el paciente Dirección

II. ASEGURAMIENTO DEL INVESTIGADOR O DEL MIEMBRO DEL EQUIPO

He discutido lo anterior con esta persona. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de manera informada y ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Fecha Firma del persona que obtuvo el consentimiento Nombre en letra de molde

Células madre para parálisis cerebral
Forma de Consentimiento: 13/06/2011, Versión 2.0
Iniciales del Participante:



CAPÍTULO XI

11. BIBLIOGRAFIA

1. Felling, R.J., et al., *Neural stem/progenitor cells participate in the regenerative response to perinatal hypoxia/ischemia*. *The Journal of neuroscience*, 2006. **26**(16): p. 4359-4369.
2. Pakula, A.T., K. Van Naarden Braun, and M. Yeargin-Allsopp, *Cerebral palsy: classification and epidemiology*. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 2009. **20**(3): p. 425-452.
3. Palisano, R.J., et al., *Content validity of the expanded and revised Gross Motor Function Classification System*. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 2008. **50**(10): p. 744-750.
4. Blair, E. and F. Stanley, *Interobserver agreement in the classification of cerebral palsy*. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 1985. **27**(5): p. 615-622.
5. Glascoe, F.P. and K.E. Byrne, *The usefulness of the Battelle developmental inventory screening test*. *Clinical pediatrics*, 1993. **32**(5): p. 273-280.
6. Berls, A.T. and I.R. McEwen, *Battelle developmental inventory*. *Physical therapy*, 1999. **79**(8): p. 776-783.

7. Hurt, H., et al., *A prospective comparison of developmental outcome of children with in utero cocaine exposure and controls using the Battelle Developmental Inventory*. Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics, 2001. **22**(1): p. 27-34.
8. Snider, L., et al., *Prediction of motor and functional outcomes in infants born preterm assessed at term*. Pediatric Physical Therapy, 2009. **21**(1): p. 2-11.
9. Back, S.A. and S.A. Rivkees. *Emerging concepts in periventricular white matter injury*. in *Seminars in perinatology*. 2004. Elsevier.
10. Follett, P.L., et al., *Glutamate receptor-mediated oligodendrocyte toxicity in periventricular leukomalacia: a protective role for topiramate*. The Journal of neuroscience, 2004. **24**(18): p. 4412-4420.
11. Levison, S.W., et al., *Hypoxia/ischemia depletes the rat perinatal subventricular zone of oligodendrocyte progenitors and neural stem cells*. Developmental neuroscience, 2001. **23**(3): p. 234-247.
12. Robinson, S., et al., *Developmental changes induced by graded prenatal systemic hypoxic–ischemic insults in rats*. Neurobiology of disease, 2005. **18**(3): p. 568-581.
13. Hayashi, T., et al., *Neural precursor cells division and migration in neonatal rat brain after ischemic/hypoxic injury*. Brain research, 2005. **1038**(1): p. 41-49.
14. Mehta, T., et al. *Subarachnoid placement of stem cells in neurological disorders*. in *Transplantation proceedings*. 2008. Elsevier.
15. Yoo, J., H.S. Kim, and D.Y. Hwang, *Stem cells as promising therapeutic options for neurological disorders*. Journal of cellular biochemistry, 2013. **114**(4): p. 743-753.
16. Goldman, S.A., S. Schanz, and M.S. Windrem, *Stem cell-based strategies for treating pediatric disorders of myelin*. Human molecular genetics, 2008. **17**(R1): p. R76-R83.

17. Nakatomi, H., et al., *Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors*. Cell, 2002. **110**(4): p. 429-441.
18. Rempe, D.A. and T.A. Kent, *Using bone marrow stromal cells for treatment of stroke*. Neurology, 2002. **59**(4): p. 486-486.
19. Kulbatski, I., et al., *Endogenous and exogenous CNS derived stem/progenitor cell approaches for neurotrauma*. Current drug targets, 2005. **6**(1): p. 111-126.
20. Eglitis, M.A., et al., *Targeting of marrow-derived astrocytes to the ischemic brain*. Neuroreport, 1999. **10**(6): p. 1289-1292.
21. Eglitis, M.A. and É. Mezey, *Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997. **94**(8): p. 4080-4085.
22. Mezey, É., et al., *Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. **100**(3): p. 1364-1369.
23. Woodbury, D., et al., *Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons*. Journal of neuroscience research, 2000. **61**(4): p. 364-370.
24. Li, Y., et al., *Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat Neurotrophins and functional recovery*. Neurology, 2002. **59**(4): p. 514-523.
25. Carroll, J.E. and R.W. Mays, *Update on stem cell therapy for cerebral palsy*. Expert opinion on biological therapy, 2011. **11**(4): p. 463-471.
26. Venkataramana, N.K., et al., *Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease*. Translational Research, 2010. **155**(2): p. 62-70.

27. Kishk, N.A., et al., *Case control series of intrathecal autologous bone marrow mesenchymal stem cell therapy for chronic spinal cord injury*. Neurorehabilitation and neural repair, 2010.
28. Karussis, D., et al., *Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis*. Archives of neurology, 2010. **67**(10): p. 1187-1194.
29. Gordon, P.H., et al., *Reaction time and movement time after embryonic cell implantation in Parkinson disease*. Archives of neurology, 2004. **61**(6): p. 858-861.
30. Appel, S., et al., *Hematopoietic stem cell transplantation in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis*. Neurology, 2008. **71**(17): p. 1326-1334.
31. Sharma, A., et al., *Administration of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in children with incurable neurological disorders and injury is safe and improves their quality of life*. Cell transplantation, 2012. **21**(Supplement 1): p. S79-S90.
32. Chen, G., et al., *Neural stem cell-like cells derived from autologous bone mesenchymal stem cells for the treatment of patients with cerebral palsy*. J Transl Med, 2013. **11**(1): p. 21.
33. Hu, S.-L., et al., *Functional recovery in acute traumatic spinal cord injury after transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells*. Critical care medicine, 2010. **38**(11): p. 2181-2189.
34. Busch, S.A., et al., *Multipotent adult progenitor cells prevent macrophage-mediated axonal dieback and promote regrowth after spinal cord injury*. The Journal of Neuroscience, 2011. **31**(3): p. 944-953.

35. Horie, N., et al., *Transplanted Stem Cell-Secreted Vascular Endothelial Growth Factor Effects Poststroke Recovery, Inflammation, and Vascular Repair*. *Stem Cells*, 2011. **29**(2): p. 274-285.
36. Blatteis, C.M., *The onset of fever: new insights into its mechanism*. *Progress in brain research*, 2007. **162**: p. 3-14.
37. Yamout, B., et al., *Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: a pilot study*. *Journal of neuroimmunology*, 2010. **227**(1): p. 185-189.
38. Mazzini, L., et al., *Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: A Phase I clinical trial*. *Experimental neurology*, 2010. **223**(1): p. 229-237.
39. Moniche, F., et al., *Intra-arterial bone marrow mononuclear cells in ischemic stroke a pilot clinical trial*. *Stroke*, 2012. **43**(8): p. 2242-2244.
40. Kumar, A.A., et al., *Autologous bone marrow derived mononuclear cell therapy for spinal cord injury: a phase I/II clinical safety and primary efficacy data*. *Exp Clin Transplant*, 2009. **7**(4): p. 241-248.
41. Syková, E., et al., *Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury*. *Cell transplantation*, 2006. **15**(8-9): p. 675-687.
42. Purandare, C., et al., *Therapeutic potential of autologous stem cell transplantation for cerebral palsy*. *Case reports in transplantation*, 2012. **2012**.
43. Meuleman, N., et al., *Intrathecal donor lymphocyte infusion for the treatment of suspected refractory lymphomatous meningitis: a case report*. *European journal of haematology*, 2006. **77**(6): p. 523-526.

44. Min, K., et al., *Umbilical Cord Blood Therapy Potentiated with Erythropoietin for Children with Cerebral Palsy: A Double-blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial*. *Stem Cells*, 2013. **31**(3): p. 581-591.
45. Bakanay, Ş.M. and T. Demirer, *Novel agents and approaches for stem cell mobilization in normal donors and patients*. *Bone marrow transplantation*, 2011. **47**(9): p. 1154-1163.
46. Amariglio, N., et al., *Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient*. *PLoS medicine*, 2009. **6**(2): p. e1000029.
47. Simaria, A.S., et al., *Allogeneic cell therapy bioprocess economics and optimization: Single-use cell expansion technologies*. *Biotechnology and bioengineering*, 2014. **111**(1): p. 69-83.
48. Narayanan, U.G., *Management of children with ambulatory cerebral palsy: an evidence-based review*. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, 2012. **32**: p. S172-S181.
49. Wang, X., et al., *Effects of bone marrow mesenchymal stromal cells on gross motor function measure scores of children with cerebral palsy: a preliminary clinical study*. *Cytotherapy*, 2013. **15**(12): p. 1549-1562.
50. Tarantal, A.F., et al., *Radiolabeling Human Peripheral Blood Stem Cells for Positron Emission Tomography (PET) Imaging in Young Rhesus Monkeys*. *PloS one*, 2013. **8**(10): p. e77148.
51. Ma, X., et al., *Development of new technologies for stem cell research*. *BioMed Research International*, 2012. **2012**.
52. Obenaus, A., et al., *Long-term magnetic resonance imaging of stem cells in neonatal ischemic injury*. *Annals of neurology*, 2011. **69**(2): p. 282-291.

CAPÍTULO XII

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

María del Consuelo Mancías Guerra

Candidata para obtener el Grado de Doctor en Medicina

Tesis: CELULAS MADRE INTRATECALES AUTOLOGAS EN NIÑOS CON DAÑO CEREBRAL HIPOXICO/ISQUEMICO

Campo de estudio: Ciencias de la Salud, Hematología Pediátrica

Biografía:

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León, el día 8 de Agosto de 1970, hija de Pedro Mancías Botello y María del Consuelo Mancías Guerra

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido: Médico Cirujano Partero en 1992, tercer lugar de la generación, Pediatría Clínica en 1996 y Hematología Clínica en 1998, ambas en la UANL.

Fellowship en Trasplante de Médula Ósea y Criopreservación de Células Hematoprogenitoras en la Universidad de Texas en San Antonio de 1998 a 1999, incluyendo una rotación de un mes en el "Fred Hutchinson Cancer Research Center" en Seattle Washington.

Experiencia Profesional: Personal Médico No Docente del Hospital Universitario "Dr. José E. González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 2001, Coordinadora del Banco de Sangre con Manejo de Células Hematoprogenitoras y del Laboratorio de Criopreservación del Servicio de Hematología del Departamento de Medicina Interna de la UANL desde 2002
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde 2008,
Profesor Asociado de la misma universidad desde 2013.

Profesor invitado de 45 conferencias en congresos nacionales e internacionales,
Autora y Coautora de 9 capítulos de diferentes libros de
pediatría y hematología en español,
32 publicaciones en revistas médicas nacionales e internacionales indexadas.
Presentación de más de 80 trabajos en congresos nacionales e internacionales.
9 premios y distinciones nacionales en medicina en el área de Hematología.
Asesora de 5 pasantes del Programa Nacional de Servicio Social
en Medicina desde el año 2010.

Certificada por el “Consejo Mexicano de Hematología” desde 1998 a la fecha,
Socio titular de la “Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología”, y
de la “International Society of Cellular Therapy”,

*“Pero los que confían en el Señor renovarán sus fuerzas;
volarán como las águilas: correrán y no se fatigarán,
caminarán y no se cansarán.”*

Isaías 40:31

Ad Iesum Per Mariam – Por medio de María

Ad Maiorem Dei Gloriam - Para la Mayor Gloria de Dios