



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS DE LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL EN EL HOSPITAL MATERNO DE CAMAGÜEY

Autores: DMVZ Lidyce Quesada Leyva¹, Dra. Yanet Lázara Fonseca Rey², Dra. Cira Cecilia León Ramentol³, Lic Sandra Fernández Torres⁴, Lic. Elizabeth Nicolau Pestana⁵, Lic. Ever Quintana Verdecía⁶

¹ Dra. Medicina Veterinaria y Zootecnia. MSc. en Diagnóstico Veterinario. Profesor Asistente. Investigador Agregado. Centro de Investigación y Productos Biológicos. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey, Cuba. e-mail: lidyce.cmw@infomed.sld.cu.

² Médico General. Especialista de Histología. Profesor Instructor. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey, Cuba.

³ Especialista de primer grado en Medicina General Integral y de segundo grado en Laboratorio Clínico. Profesor Auxiliar. Investigador Agregado. Centro de Investigación y Productos Biológicos. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey, Cuba

⁴ Lic. en Laboratorio Clínico. Profesora Asistente, Investigador Agregado. Centro Investigación y Productos Biológicos. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey. e-

⁵ Lic. en Biología. Máster en Bacteriología-Micología. Presidenta de la Sociedad Provincial de Microbiología. Profesor Auxiliar. Centro de Investigación y Productos Biológicos. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey, Cuba. e-mail:

⁶ Lic. en Laboratorio Clínico. Profesor Asistente. Centro Investigación y Productos Biológicos. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey.



RESUMEN

Fundamento: el cordón umbilical se ha convertido en un elemento de interés para la medicina regenerativa en los últimos años, constituye una fuente importante de células madre y progenitores hematopoyéticos propiciada por la estructura que presenta. **Objetivo:** caracterizar el comportamiento morfológico de la sangre del cordón umbilical para terapia regenerativa en recién nacidos del Hospital Universitario Ginecobstétrico “Ana Betancourt de Mora” de Camagüey. **Método:** se realizó un estudio observacional analítico transversal en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de Camagüey, desde enero a diciembre de 2017. Se evaluaron 35 muestras de sangre del cordón umbilical obtenidas de recién nacidos de madres sin procesos enfermedades infecciosas y a partir de partos eutócicos. **Resultados:** el mayor de células mononucleares correspondió a los linfocitos y en el conteo diferencial los polimorfonuclear neutrófilos ocuparon el primer lugar seguido de los linfocitos con una media de 0,50 y 0,46 respectivamente. Las células presentes en el frotis del botón, el mayor promedio resultó en los linfocitos, con 0,59, mientras que se observó en el recuento de monocitos un promedio de 0.00 a 0,07. **Conclusiones:** predominaron los linfocitos entre las células mononucleares tanto en la sangre del cordón umbilical como en el botón celular aislado. En el conteo diferencial fue mayor el número de polimorfonucleares neutrófilos.

Palabras clave: cordón umbilical; células mononucleares, terapia regenerativa.

Introducción

Tanto la placenta humana como el cordón umbilical, fueron considerados por muchos años un material de desecho posparto; sin embargo, a partir de las investigaciones realizadas en los años sesenta, las células progenitoras



hematopoyéticas (CPH) provenientes de las unidades de sangre de cordón umbilical (USCU) se utilizan en la terapia de diversas patologías hematológicas, así como en enfermedades quimio o radiosensibles. ¹

Durante los últimos años, estas CPH provenientes de las USCU se han aprovechado en terapia celular por las ventajas que presentan sobre las CPH de medula ósea y sangre periférica. Sin embargo, el bajo volumen que se obtiene resulta una cantidad de células CD34+, su uso es casi exclusivamente a pacientes pediátricos o aquellos con peso corporal menor a 35 kg. Aunque se han desarrollado técnicas para superar esta limitación, como el uso de CPH proveniente de dos cordones umbilicales^{2,3} y la expansión celular ex vivo, estas alternativas se encuentran en investigación.^{4,5}

El cordón umbilical se ha convertido en un elemento de interés para la Medicina Regenerativa en los últimos años, representa la unión entre el feto y la madre durante el embarazo, interviene en la nutrición fetal y permite resistir las presiones intrauterinas y las tracciones fetales.^{6,7}

Se ha demostrado que el cordón umbilical de los recién nacidos tanto a término como pretérmino, contiene un número determinado de progenitores hematopoyéticos inmaduros y comprometidos,⁸ resultante de la hematopoyesis fetal, que es el proceso fisiológico por el cual se produce la maduración de todos los tipos celulares que componen la sangre. Su funcionamiento correcto permite la formación de células responsables del transporte de oxígeno, de la coagulación sanguínea e inmunidad. ⁸

Las CM presentes en la circulación fetal tienen características diferenciales con respecto a las del hígado y médula ósea fetales; su porcentaje se mantiene elevado durante toda la vida intrauterina hasta el momento del nacimiento.⁹ Estas células cumplen con las dos propiedades fundamentales que definen a las CM son capaces de autorenovarse y diferenciarse en múltiples tipos celulares hasta llegar a especializarse, además son consideradas como CM adultas pluripotenciales; su proceso de diferenciación para adquirir compromiso de



estirpe está condicionado por el microambiente en que se encuentran.⁹⁻¹¹

La SCU es una fuente eficaz de diversos tipos celulares, entre ellos las células mononucleares,^{12,13} entre las que se incluyen: los monoblastos, linfoblastos, linfocitos, monocitos y los precursores eritrocíticos proeritroblastos y eritroblastos.¹⁴

Objetivo: determinar el comportamiento morfológico de las células sanguíneas del cordón umbilical obtenidas en el Hospital Universitario Ginecobstétrico Ana Betancourt de Mora.

Diseño metodológico

Se realizó un estudio observacional analítico transversal en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de Camagüey, desde enero a diciembre de 2017. Se tomaron 35 muestras de USCU de recién nacidos fueron obtenidas en el Hospital Universitario Provincial "Ana Betancourt de Mora"; de madres sin procesos infecciosos concurrentes, que aceptaron y firmaron el consentimiento informado.

Las muestras fueron colectadas luego de pinzar el cordón umbilical, antes de producirse el alumbramiento, se extrajeron 10 ml de sangre venosa en tubo heparinizado. Homogenizada la sangre con el anticoagulante, se rotuló el tubo y trasladó hasta el laboratorio en una nevera.

Para realizar el conteo diferencial de las células presentes en la sangre, obtención del botón celular y la coloración con tripán azul para determinar la viabilidad celular, se siguió la metodología descrita en la Instrucción operacional.04, procedimiento normativo operacional del sistema de gestión de calidad.02, Instrucción operacional.19, procedimiento normativo operacional



del sistema de gestión de calidad 10 e instrucción operacional.07, procedimiento normativo operacional del sistema de gestión de calidad 10,^{15,16,17} que norma la realización de procederres.

Se determinaron los estadígrafos de tendencia central y dispersión de la morfología celular de la sangre del botón celular aislado y del cordón umbilical. Se utilizó la técnica de componentes principales para crear un constructo con las variables: conteo y la viabilidad celular en la sangre del cordón y del botón celular aislado. La información se organizó en una base de datos para su procesamiento con el paquete estadístico SPSS versión 21 para Windows. Los datos se procesaron con un nivel de confiabilidad del 95 %. Se empleó la estadística descriptiva e inferencial y se presentaron los resultados en tablas y gráficos estadísticos.

RESULTADOS

El mayor recuento del tipo de células mononucleares procedentes de la sangre del cordón umbilical se observó linfocitos, con una media de 0,46; con una desviación estándar de 0,10 y recuento mínimo y máximo de 0,23 y 0,61 respectivamente. Le continúa la célula linfomonocitarias con un promedio de 0,02, desviación estándar de 0,01 y recuento mínimo de 0,01 y máximo de 0,05. Las células de tipo mieloblastos, linfoblastos presentaron promedios de 0,01, no se observaron monoblastos (Tabla 1).



Tabla 1. Recuento de células mononucleares de la sangre del cordón umbilical según el tipo celular.

Tipo de célula mononuclear	Media (10 ⁹ /L)	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
linfocitos	0,46	0,10	0,23	0,61
monocitos	0,02	0,04	0,00	0,07
mieloblastos	0,01	0,01	0,00	0,06
monoblastos	0,00	0,01	0,00	0,02
linfoblastos	0,01	0,01	0,00	0,03
linfomonocitarias	0,02	0,01	0,01	0,05

El conteo diferencial de las células de la sangre del cordón umbilical tuvo predominio de neutrófilos y linfocitos. Los polimorfonucleares neutrófilos ocuparon el primer lugar seguido de los linfocitos con medias de 0,50 y 0,46 respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Recuento diferencial de células de la sangre del cordón umbilical según el tipo celular.

Tipo celular	Media (10 ⁹ /L)	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
polimorfonuclear neutrófilo	0,50	0,08	0,38	0,70
linfocito	0,46	0,10	0,23	0,61
monocito	0,02	0,02	0,00	0,07
polimorfonuclear eosinófilo	0,02	0,02	0,00	0,08
polimorfonuclear basófilo	0,00	0,00	0,00	0,02
Stab	0,00	0,01	0,00	0,05



Las células mononucleares presentes en el frotis del botón, el mayor promedio resultó en los linfocitos, con 0,59; una desviación estándar de 0,11; recuento mínimo y máximo de 0,40 y 0,91 respectivamente, mientras que los monocitos oscilaron en valores de 0,00 a 0,07 con una media de 0,004 y una desviación estándar de 0,013 (Tabla 3).

Tabla 3. Recuento celular del frotis del botón según el tipo de célula mononuclear.

Tipo de célula mononuclear	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
linfocitos	0,59	0,11	0,40	0,91
monocitos	0,004	0,013	0,00	0,07

DISCUSIÓN

La sangre contenida en la vena umbilical presenta células precursoras, que dan lugar a células maduras que se encuentran en la circulación fetal, por lo que es frecuente encontrar diferentes tipos celulares como linfoblastos, mieloblastos, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos en diferentes proporciones y evidencian el grado de inmadurez inmunológica existente en el período neonatal. ¹⁸⁻²⁰

La obtención de células mononucleares viables a través de la vena umbilical, constituye una técnica promisoriosa en las investigaciones biomédicas. En la cuantificación de las células mononucleares se incluyen a los monoblastos, linfoblastos, mieloblastos, linfocitos, monocitos y células linfomonocitarias encontradas en las muestras de sangre del cordón umbilical como resultado de



tres procesos importantes: hematopoyesis, migración celular y circulación fetal.¹⁹⁻²²

El número absoluto de neutrófilos segmentados se eleva tanto en los lactantes a términos como en los prematuros en las primeras 24 h de vida y los granulocitos segmentados son las células predominantes en los primeros días de vida. Cuando las cifras descienden, el linfocito se convierte en la célula más numerosa, permaneciendo así durante los primeros cuatro años de vida, todo lo cual explica el comportamiento de este conteo diferencial.¹⁹

El comportamiento acorde con la distribución normal de estas células sanguíneas, cuya proporción está en correspondencia con las funciones que desempeñan en el organismo y que se demuestra en otros estudios realizados, como los obtenidos por Borstein²¹ en España, donde existe un mayor promedio de linfocitos con respecto a los monocitos.

Estudios procedentes de bancos de sangre de cordón umbilical y la universidad chilena, describen que en un mL de sangre del cordón umbilical hay aproximadamente 8 000 progenitores de eritrocitos, de 13 a 24 000 progenitores mieloides, y entre 1 000 y 10 000 células madre pluripotenciales.^{23,24}

Al analizar los monocitos y eosinófilos se puede observar que se comportan como se describe en la literatura con un promedio de 0,02 en ambos casos, estos resultados coinciden con lo observado por Amo Usanos R²⁵ en su artículo los bancos de sangre de cordón umbilical: aspectos biomédicos y bioéticos. Refiere que la fórmula leucocitaria se comportó de la siguiente manera; granulocitos (51 ± 8 %), linfocitos (40± 7 %), monocitos (5±4 %), y un 4 % de otros tipos celulares, fundamentalmente eosinófilos.

Los resultados del recuento celular del frotis del botón según el tipo de célula mononuclear coinciden con los encontrados por Calatrava Ferreras,²⁶ en un estudio del empleo de células madre de cordón umbilical en el tratamiento de ataxias cerebelosas en Madrid 2014, en el cual la fracción mononuclear se



caracterizó estudiando la expresión de antígenos hematopoyéticos y neurales durante cultivo, sin la adición de factores de crecimiento y citoquinas, en la fracción de células adherentes obtenidas predominaron linfocitos que expresaban antígenos hematopoyéticos.

CONCLUSIONES

En la sangre del cordón umbilical obtenida en el Hospital Universitario Ginecobstétrico Ana Betancourt de Mora de Camagüey predominaron los linfocitos entre las células mononucleares. En el conteo diferencial en el botón celular aislado fue mayor el número de polimorfonucleares neutrófilos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernández-Plaza S, Reques-Llorente B. Bases del tratamiento del cáncer en Pediatría: principios de la terapia multimodal. *Pediatr Integral*. 2016; 20(7):465-74.
2. Escamilla-Martín Tulio S R, Ángel García Alonso-López A G and Martínez Cuan J R. Donación de sangre de cordón umbilical. Experiencia en Médica Sur. *Revista de investigación médica sur*. 2009;16(2):50-54.
3. Sánchez Verónica F, Gabriela Ibañez C and Bello López JM. Células troncales provenientes de sangre de cordón umbilical: de la investigación a la aplicación clínica. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*. 2015; 15(1):45-52. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=61296>
4. Ballen KK, Barker JN, Stewart SK, Greene MF, Lane TA; American Society of Blood and Marrow Transplantation. Collection and preservation of cord



- blood for personal use. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Mar;14(3):356-63.
5. Ávila L, Martínez C, Ávila J, Becerra A, Jaimes J, Gómez J: Caracterización de los procesos de obtención, transporte, procesamiento y criopreservación de las muestras de cordón umbilical, obtenidas de enero de 2006 a febrero de 2008 en el banco de células Stem de Colombia. *Nova – Publicación científica en ciencias biomédicas*. 2009:60-65
 6. Quesada Leyva L, León Ramentol C C, Fernández Torres S y Nicolau Pestana E. Células madre: una revolución en la medicina regenerativa. *MediSan*;2017 21(5): 574-581.
 7. Rivero Jiménez RA. Razones para un banco de sangre de cordón umbilical en el Instituto de Hematología e Inmunología de Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2013 [citado 2019 Jun 10];30(1):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/129>
 8. López Calderón IM. Recuento de células hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical de madres sanas [tesis]. Guatemala; Universidad San Carlos de Guatemala 2008.
 9. Pimentel-Parra G, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinatología y Reproducción Humana*. 2017; 31(1):28-33. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0187533717300560>
 10. Pievani A, Sacchetti B, Corsi A, Rambaldi B, Donsante S, Scagliotti V, et al. Human umbilical cord blood-borne fibroblasts contain marrow niche precursors that form a bone/marrow organoid *in vivo*. *Development* [Internet]. 2017 [citado 10 Junio 2019]; 144(6). Disponible en: <http://dev.biologists.org/content/develop/144/6/1035.full.pdf>
 11. Svitlana Garvuzova D, Ehrhart J, Sanberg Paul R. Cord blood as a Potential Therapeutic for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Expert Opinion on Biological*



- Therapy [Internet]. 2017
12. Arévalo Romero JA, Páez Guerrero DM, Rodríguez Pardo VM. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. Nova publicación científica en Ciencias Biomédicas [Internet]. 2007 [citado 2 feb 2018]; 5(8): 177-184. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1065699508003125>.
 13. Socarrás Ferrer BB, del Valle Pérez LO, de la Cuétara Bernal K, Marsán Suárez V, Sánchez Segura M, Macías Abraham C. Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en medicina regenerativa. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2013 [citado 2019 Jun 10];29(1):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/19>
 14. Rosales Cortina L, Ramírez Hernández P, López de Roux M, Artaza Sanz H, Dorticós Balea Elvira, Macías Abraham C, et al. Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica para transplante de células madre. Método simplificado. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2008; 24(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086402892008000300004&le.
 15. NC-ISO 9001: 2015. Norma Cubana Sistemas de Gestión de la Calidad — Requisitos.
 16. ISO 9001: 2015 (Traducción certificada) IDT.
 17. Quality management systems — Requirements. 5 ed. La Habana: Cuban National Bureau of Standards. 2015.
 18. Rodríguez, VM, Cuéllar, A, Cuspoca, LM, Contreras, CL, Mercado, M, Gómez, A. Determinación fenotípica de subpoblaciones de células madre derivadas de sangre de cordón umbilical. Biomédica [Internet]. 2006;26(1):51-60. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84326107>



19. Lichtman MA. Williams: manual de hematología. 8va edición: McGraw Hill México; 2014.
20. Sarvaria A, Jawdat D, Madrigal JA y Saudemont A. Umbilical cord blood natural killer cells, their characteristics, and potential clinical applications. *Frontiers in immunology*. 2017 8:329. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00329/full>
21. Bornstein Sánchez R. Desarrollo y estandarización de un banco de sangre de cordón umbilical [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 1999.
22. Torres Palomino DC. Evaluación del recuento de progenitores hematopoyéticos de las unidades de sangre de cordón umbilical según criterios de celularidad NETCORD. Instituto Materno Perinatal de Lima. 2014. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/8749>
23. Petrini C. Ethical issues in umbilical cord blood banking: a comparative analysis of documents from national and international institutions. *Transfusion*. 2013;53(4):902-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22845856>
24. Iqbal HMN, Dhama K, Munjal A, Khandia R, Karthik K, Dadar M, et al. Tissue Engineering and Regenerative Medicine Potentialities of Materials - Based Novel Constructs- A Review. *Current Regenerative Medicine Formerly: Recent Patents on Regenerative Medicine*. 2016;6(1):29-40. Disponible: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/crm/2016/00000006/00000001/art00005>
25. Amo Usanos R. Los bancos de sangre de cordón umbilical: aspectos biomédicos y bioéticos. *Cuadernos Bioética* [Internet]. 2009 [citado 15 Ene 2018]; 20(2): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/875/87512373005.pdf>



Primer Congreso Virtual de
Ciencias Básicas Biomédicas en Granma.
Manzanillo.



26. Calatrava Ferreras L. Uso potencial del Factor de Crecimiento del Hígado (LGF) y células madre de cordón umbilical en el tratamiento de las ataxias cerebelosas [Tesis]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2014.

Contribuciones de los autores

Lidyce Quesada Leyva: Búsqueda y organización de la información, revisión de la metodología utilizada y realización del informe final.

Yanet Lázara Fonseca Rey: Selección del universo de estudio, búsqueda de la información Sandra Fernández Torres: Organización de la información y revisión de la metodología utilizada.

Cira Cecilia León Ramentol: Búsqueda y organización de la información, metodología utilizada y procesamiento estadístico.

Elizabeth Nicolau Pestana: Búsqueda y organización de la información.

Ever Quintana Verdecía: Organización de la información y realización del informe final.