



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
SECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

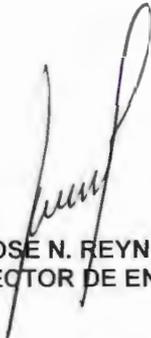
BIOLOGIA DE LAS CELULAS DE PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS

TRABAJO DE TESIS QUE PRESENTA
DRA. GLADYS NOHEMI GARCIA BECERRA
PARA OBTENER EL TITULO DE SUBESPECIALISTA EN
ONCOLOGIA PEDIATRICA

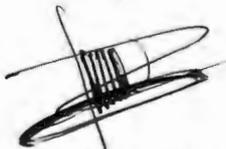
MEXICO, D.F., 2011

INP
CENTRO DE INFORMACION
Y COMUNICACIÓN

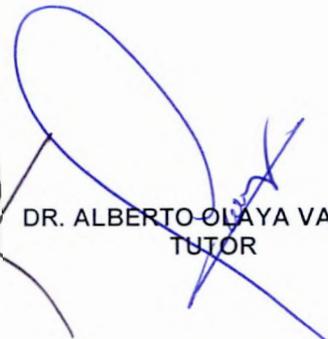
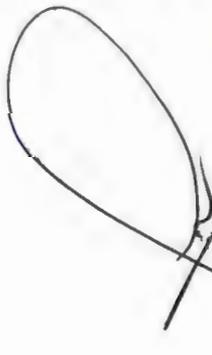
BIOLOGIA DE LAS CELULAS DE PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS



DR. JOSÉ N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DR. ALBERTO OLAYA VARGAS
TUTOR



INDICE DE CONTENIDO

I.	Resumen	4
II.	Introducción	5
III.	Marco teórico	6
IV.	Justificación	9
V.	Pregunta de investigación	10
VI.	Objetivos	11
VII.	Material y métodos	12
VIII.	Resultados	13
IX.	Conclusión	15
X.	Bibliografía	25
XI.	Anexos	29

I. RESUMEN

La célula progenitora hematopoyética (CPH) es aquella que es capaz de diferenciarse en distintos tipos de célula especializada morfológica y funcionalmente y autorenovarse. Dicha célula se encuentra en el hígado fetal o en la medula ósea. El nicho es un compartimiento donde se llevan a cabo la diferenciación y autorrenovación de las CPH. Otras células que forman parte del nicho en la medula ósea son los fibroblastos reticulares, macrófagos, adipocitos, células endoteliales y los osteoblastos, todas estas secretan RNA mensajero de factor estimulante de colonias de granulocitos, el factor estimulante de granulocitos macrófagos, IL-1, IL-1b, IL-6, el factor de crecimiento transformador beta, y factor de necrosis tumoral, colaborando así a la hematopoyesis. La sangre del cordón umbilical contiene CPH las cuales han sido usadas como método terapéutico (trasplante) en múltiples patologías benignas como malignas, así mismo la estimulación con factor estimulante de colonias de los granulocitos aumenta el número de CPH en sangre periférica siendo esta otra forma de obtener progenitores hematopoyéticos con fines terapéuticos.

II. INTRODUCCION

Cada día, billones de nuevas células sanguíneas se producen en el cuerpo humano, derivadas de células progenitoras hematopoyéticas, ya que las células hemáticas maduras tienen un límite de vida, la habilidad de las CPH perpetua la autorrenovación y la producción de nuevas células sanguíneas (hematopoyesis)

III. MARCO TEORICO

Célula madre o progenitora es el término usado para nombrar a aquella célula que es capaz de diferenciarse en distintos tipos de células especializadas tanto morfológica como funcionalmente y además autorenovarse. Dichas células se pueden clasificar según su capacidad de diferenciación en distintos tipos de tejidos o según su potencialidad. Se clasifican en cuatro tipos:

Células totipotenciales son aquellas capaces de producir tanto tejido embrionario, es decir, tanto un embrión completo como tejidos extraembrionarios (placenta y anexos placentarios).

Células pluripotenciales son las que tiene la capacidad de diferenciarse en las tres capas germinales: endodermo, ectodermo y mesodermo, e incluidas las células germinales.

Células multipotenciales las cuales son capaces de diferenciarse en distintos tipos celulares, pero restringiendo su potencial a tejidos derivados de una única capa embrionaria, o sea, tejidos derivados de mesodermo, ectodermo o endodermo.

Células madre o progenitoras son derivadas del blastocisto o de la cresta gonadal las cuales tiene la capacidad de diferenciarse en células progenitoras neuronales, de medula ósea, etc. (1, 2, 3, 4)

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se encuentran dentro de la medula ósea o del hígado fetal y pueden autorenovarse. Las CPH se separan en distintas subpoblaciones basadas en el fenotipo y la función.

Las CPH y los progenitores multipotenciales (PMM) se encuentran en un pequeño compartimiento (nicho), constituyendo el 0.1% del total de las células de la medula ósea, (5). Dado que la localización anatómica de las CPH cambia con el desarrollo, también lo hacen los nichos. En la medula ósea (MO), localización definitiva en el adulto, los osteoblastos forman los nichos, pero no son los únicos elementos celulares implicados. La dinámica celular del nicho hematopoyético y las CPH tienen importancia desde el punto de vista clínico, ya que modulan la capacidad de autorrenovación y diferenciación celular, se ha visto en modelos murinos que defectos moleculares en los nichos hematopoyéticos originan síndromes mieloproliferativos premalignos.

En los nichos se lleva a cabo los eventos más tempranos de la hematopoyesis a partir de CPHs que generan progenitores primitivos cuyo compromiso de linaje se establece gradualmente (6). Posteriormente estos dan lugar a células progenitoras oligopotentes de linaje restrictivo, incluyendo progenitores linfoides comunes (PLC), y progenitores mieloides comunes (PMC); como primer paso en el compromiso de las CPHs hacia una estirpe celular. Los PLC dan lugar a los linfocitos B y a los asesinos naturales (NK), mientras que los linfocitos T son producidos por los precursores linfoides tempranos (PLT) (7).

La hematopoyesis fetal es el proceso de ontogénesis inmunológica y hematopoyética, se inicia en el saco vitelino, hígado y en su última fase en

médula ósea. Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) humanas cuentan con marcadores de superficie como CD34 y CD90 y la falta de expresión de la molécula CD38. La expresión de CD34 es una de las diferencias entre las CPH humanas y las murinas (siendo este el modelo animal más estudiado). Las células CD34+CD38- regeneran la hematopoyesis humana y son capaces de autorrenovarse y diferenciarse comportándose pues como CPH. (10, 11)

El desarrollo inmunológico humano, transcurre preferentemente en el timo siendo modulado por células estromales tímicas y citocinas produciendo maduración de las células precursoras de linfocitos T y es modulado para inducir tolerancia antigénica.

Sin embargo, el timo no contiene ni produce progenitores de renovación autóloga, por lo que la linfopoyesis de las células T es mantenida por la importación periódica de pequeñas cantidades de progenitores hematopoyéticos a través de la corriente sanguínea a la intermediación tímica corteza-médula.

Después del nacimiento, se producen las células sanguíneas en la médula ósea. El desarrollo de la cavidad de médula ósea es una estrategia coordinada en donde las células progenitoras hematopoyéticas migran colonizándolos los espacios óseos y el cartílago embrionario. El estroma celular de la médula ósea está formada por células mesenquimales las cuales tienen la capacidad de secretar proteínas se comportan como proteínas de adhesión y receptores entre la matriz extracelular y las células progenitoras hematopoyéticas, esta interacción forma nichos estableciéndose un microambiente en donde se desarrollan y diferencian las células progenitoras hematopoyéticas, además de permanecer quiescentes (19, 20, 21, 22). Otras células que sirven de apoyo de células del estroma en la médula ósea son los fibroblastos reticulares, macrófagos, adipocitos y células endoteliales y los osteoblastos los cuales son derivados de un precursor común.

El microambiente que proporciona la médula ósea a las CPH y a los progenitores primarios ocasiona la interacción de las células y la exposición a concentraciones variables de citocinas. El soporte linfo-hematopoyético está dado por las células estromales, osteoblastos y células endoteliales, teniendo además la capacidad de elaborar una variedad de moléculas de adhesión que les permiten responder bidireccionalmente a los estímulos producidos por las células vecinas. El nicho hematopoyético mantiene a las CPHs en periodos de prolongada quiescencia en los cuales aproximadamente el 70% de las células están en G₀, muy probablemente debido a la expresión de factores genéticos intrínsecos que inhiben el ciclo celular, como p21 y pTEN, así como a la actividad de diversas moléculas de adhesión (36, 37, 38, 39). La activación de la CPH, producen la autorenovación o división celular asimétrica. La mayoría de los progenitores linfoides tempranos pasan un tiempo considerable en G₀, y aún cuando los componentes del nicho hematopoyético que sostiene a las células progenitoras multipotentes no se

conocen, esta condición quiescente puede ser importante en el control del tamaño de la población y para la integridad de las células que reabastecen el sistema inmune a lo largo de la vida.

Las células derivadas de sangre humana del cordón umbilical para uso terapéutico fueron propuestas al observar la presencia de células progenitoras hematopoyéticas con capacidad e autorenovarse y totipotenciales. Dicha cantidad de células iguala o excede al de la médula ósea y sobrepasa grandemente las de sangre adulta. El primer trasplante exitoso de células progenitoras de la sangre del cordón umbilical se realizó en París, Francia, en 1988 (44). El paciente era un niño con anemia de Fanconi. Actualmente ya se han realizado trasplantes de células madre de la sangre del cordón umbilical con éxito a pacientes (en su mayoría niños) con 70 tipos de enfermedades, entre las que se incluyen pacientes con enfermedades benignas como malignas.

Las células CD34+ presentes en la sangre de cordón umbilical constituyen a población muy heterogénea. La gran mayoría de estas células expresan los antígenos HLA-DR y CD38, dicha expresión es mayor que las células progenitoras obtenidas de la médula ósea de un adulto siendo aproximadamente el 4% comparada contra el 1% de la MO. Apoyando el hecho de tener un mayor número de células progenitoras hematopoyéticas en comparación con la MO del adulto. Demostrado que las células CD34+ son capaces de reconstituir la hematopoyesis.

El trasplante de células progenitoras derivadas de sangre periférica (TCPHSP) se ha convertido en una elección óptima, sustituyendo al de la médula ósea (MO) como la fuente de dichas células debido en gran parte a la cinética del injerto y la facilidad de la recolección. Las células de progenitoras hematopoyéticas se encuentran normalmente en un número muy limitados en la circulación periférica (menos de 0.1% de todas las células nucleadas), representando una subpoblación de las células CD34+. Aunque morfológicamente sea difícil identificarlas, estas células se puedan distinguir por los la presencia de antígenos leucocitario humano (HLA) de la clase II (DR) y patrones inmunofenotípicos como CD34+/CD38-/Lin-/Thy-1+ (CDw90). Estas células no expresan antígenos CD38 y tiene la capacidad de autorenovación, y son responsables de la reconstitución hematológica a largo plazo,

El control de esta diferenciación de células madre de médula ósea a tipos celulares hematopoyéticos y no hematopoyéticos pudiera involucrar el microambiente de las células –primero al movilizar las células fuera de la médula y después reclutarlas al tejido dañado de la médula ósea. El ambiente prototipo de la células madre es un nicho en el cual la programación de las células pluripotenciales depende de las células adyacentes y los ligandos unidos a membrana y solubles circundantes.

IV. JUSTIFICACION

La hematopoyesis es un proceso dinámico, sumamente complejo que se sustenta en la evolución biológica. La migración de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) es un aspecto intrínseco del desarrollo del sistema hematopoyético, él cual es sumamente necesario para el éxito de la regeneración hematopoyética desde el periodo fetal, vida postnatal y en el periodo post-trasplante.

Por lo que se revisara la biología de la reconstitución hematopoyética desde la vida fetal, postnatal y post-trasplante.

I N P
CENTRO DE INFORMACION
Y DOCUMENTACIÓN

V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la información actual acerca de la fisiología en la reconstitución hematológica en los diferentes tiempos de vida desde el periodo fetal, vida postnatal y en el post-trasplante?

VI. OBJETIVOS

Describir el tiempo de regeneración y diferenciación hematopoyética a lo largo de la vida pre, post-natal y post-trasplante.

Describir el procedimiento de nidación y movilización de las células progenitoras hematopoyéticas

Analizar la intervención de factores humorales endógenos y factores genéticos que intervienen en el desarrollo de la hematopoyesis.

VII. MATERIAL Y METODOS

ESTRATEGIA DE BUSQUEDA PARA IDENTIFICACION DE LOS ESTUDIOS

Se realizo una búsqueda estándar seleccionando todos los artículos sin limitación de idioma en las diferentes fuentes electrónicas como PUBMED, MEDLINE y EMBASE utilizando los siguientes términos MeSH o palabras de texto: (hematopoiesis) and (hematopoiesis bone marrow), (fetal hematopoiesis), (bone marrow transplantation)

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Estudios aleatorizados controlados o estudios aleatorizados cruzados, estudios de cohorte, Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado, Metaanálisis de ensayos controlados y aleatorizados
2. Sin limitación e idioma
3. Realizados solamente en humanos o cultivos de células humanas

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Estudios en animales.

METODOS DE LA REVISION

Un revisor evaluó la elegibilidad de los estudios para su inclusión de acuerdo a los criterios de inclusión. Utilizando posteriormente la tabla de Jovell para evaluar la calidad metodológica de los artículos incluidos.

DESCRIPCION DE LOS ESTUDIOS

Se identificaron 55 artículos como potenciales elegibles. 16 artículos fueron excluidos y 39 incluidos para la revisión.

Estudios excluidos:

Se excluyeron porque los procedimientos se realizaron en modelos animales o en células de animales

Estudios incluidos:

Se incluyeron 39 artículos los cuales se realizaron en modelos humanos o en células de humanos

CALIDAD METODOLOGICA

Se calculo la calidad de los artículos con el uso de la tabla de Jovell calificando el nivel de evidencia, fuerza de evidencia, tipo de diseño del estudio y condiciones de rigor científico.

VIII. RESULTADOS

39 de los 55 estudios cumplieron los criterios de selección y se incluyeron en la presente revisión. Se encontró dos meta-análisis de ensayos controlados y aleatorizados multicéntricos con evidencia adecuada; con evidencia buena a regular un ensayo controlado y aleatorizado de un solo centro (muestra pequeña) y ocho ensayos prospectivos controlados no aleatorizados. Con evidencia regular 16 artículos: dos ensayos clínicos no aleatorizados retrospectivos, trece estudios de cohortes y un estudio de casos y controles; y doce artículos de revisión con pobre evidencia.

Procedimiento de nidación y movilización de las células progenitoras hematopoyéticas:

Los estudios 4, 8, 9, 42, 43 hablan sobre la hematopoyesis fetal durante la gestación explicando el origen de las células hematopoyéticas a partir del mesodermo y la migración a la pared amniótica y el endodermo visceral, dichas células son responsables de la formación del sistema circulatorio. Al igual sobre los cambios durante la ontogénesis eritroide y la formación de la hemoglobina. Los estudios 10,11, explican la ontogénesis inmunológica y hematopoyética además de la fase inicial de la nidación. Los artículos 12, 15, 17, 18, explican la estructura, formación y capacitación de las células B, T y NK. El artículo 21 explica el desarrollo de las células progenitoras hematopoyéticas y la nidación después del nacimiento. En los estudios 36, 37, 38, 39, los autores observaron los nichos hematopoyéticos son capaces de mantener a las células progenitoras hematopoyéticas en fase G0 del ciclo celular, manteniendo la capacidad de autorrenovación y manteniendo el control del tamaño de la población de dichas células. 45 y 46 comentan los autores sobre la capacidad de las células progenitoras de la sangre de cordón umbilical tiene la capacidad de reconstituir la hematopoyesis por la expresión de por la expresión de un marcador de membrana. Los estudios 53, 55 observaron la regeneración hematopoyética a partir de las células progenitoras hematopoyéticas derivadas de sangre periférica.

Describir el tiempo de regeneración y diferenciación hematopoyética a lo largo de la vida pre, post-natal y post-trasplante:

La edad gestacional se definió como el tiempo transcurrido a partir de la fecundación hasta el nacimiento y la edad como el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la muerte. La regeneración hematopoyética es la presencia de células hematopoyéticas en citometría de flujo posterior a realizar infusión de células progenitoras hematopoyéticas. En los estudios 4, 8, 9 describe el tiempo de formación del sistema circulatorio, de las células progenitoras hematopoyéticas y los precursores de las mismas. 45, 46, 47, 48, 49, habla del contenido de células progenitoras y precursoras en la sangre de cordón umbilical, además del tiempo de regeneración hematopoyética posterior a trasplante de sangre de cordón comparado con el trasplante de sangre periférica y médula ósea. Sin embargo a pesar de del

tiempo de injerto de las células de sangre periférica contra las células de sangre de cordón se sigue prefiriendo las primeras por la facilidad de recolección y cinética de injerto 51.

Analizar la intervención de factores humorales endógenos y factores genéticos que intervienen en el desarrollo de la hematopoyesis:

Las citocinas son proteínas que regulan la función de las células que las producen, además de ser agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la actividad de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas. Son producidas fundamentalmente, por los linfocitos y los macrófagos activados, aunque también pueden ser producidas por leucocitos polimorfonucleares, células endoteliales, epiteliales y del tejido conjuntivo. Según la célula que las produzca se denominan linfocinas (linfocito), monocinas (monocitos) o interleucinas (células hematopoyéticas). Durante la edad gestacional intervienen múltiples factores estimulantes tanto en el nicho, células progenitoras y órganos en formación como el hígado, timo, hueso. Entre los factores estimulantes de la hematopoyesis se encuentran factores estimulantes de colonias de granulocitos, granulocitos macrófagos, granulocitos/ eritroide/ macrófago/ megacariocitos, interleucinas 1,1b,3,4,6,7, 8, además de factor de crecimiento beta, factor de necrosis tumoral alfa, factores de crecimiento endotelial vascular, receptores de membrana, genes asociados a los diversos linajes (ejemplo linfoides como GATA), demás de fracciones de proteínas que se encuentran dentro de las células que permiten la diferenciación de las mismas como los factores de transcripción E2A, Ikaros, Pax5, lo anterior analizado en los siguientes artículos 4,8, 9, 11, 12,15,17, 18, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 33, 35, 42, 45, 46, 50, 51.

IX. CONCLUSIONES

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se encuentran dentro de la médula ósea o del hígado fetal y pueden autorenovarse, separándose en distintas subpoblaciones basadas en el fenotipo y la función.

Las CPH se dividen en CPH de reconstitución a largo plazo (LP-CPH) tienen la capacidad más grande de autorenovarse y dan lugar a todos los linajes hematopoyéticos a lo largo de la vida; y la progenie inmediata de CPH son (CP- CPH) CPH a corto plazo, que también generan todos los linajes hematopoyéticos, en solamente 8 a 10 semanas. Las LP-CPH, CP-CPH y los progenitores multipotentes (PMM) se encuentran en un pequeño compartimiento, constituyendo el 0.1% del total de las células de la médula ósea, dicho compartimiento es llamado LSK (Lin-Sca-1+c-kit), en donde convergen todas las poblaciones que carecen de expresión de marcadores de linaje definido, y expresan las moléculas Sca-1 y c-kit (5).

Las CPH dependen del microambiente en el que se encuentran los nichos hematopoyéticos, para la autorrenovación y diferenciación, dado que la localización anatómica de las CPH cambia con el desarrollo, también lo hacen los nichos. En este compartimiento (nicho) se llevan a cabo los eventos más tempranos de la hematopoyesis a partir de CPHs que generan progenitores primitivos cuyo compromiso de linaje se establece gradualmente (6). Posteriormente estos dan lugar a células progenitoras oligopotentes de linaje restrictivo, incluyendo progenitores linfoides comunes (PLC), y progenitores mieloides comunes (PMC); como primer paso en el compromiso de las CPHs hacia una estirpe celular. Los PLC dan lugar a los linfocitos B y a los asesinos naturales (NK), mientras que los linfocitos T son producidos por los precursores linfoides tempranos (PLT) (7).

El desarrollo de la hematopoyesis fetal ocurre secuencialmente en varios lugares anatómicos, las células hematopoyéticas derivan del mesodermo esplácnico, alrededor del día 19 de gestación las células salen del mesodermo y empiezan a migrar a lo largo de la pared amniótica y el endodermo visceral, estas células migratorias son responsables de las primeras islas sanguíneas que se encuentran en el sitio vascularizado del saco vitelino y más tarde se conectan para formar el sistema circulatorio (4, 8). Durante esta fase, en los islotes sanguíneos del saco vitelino comienzan a madurar sincrónicamente agregados de células eritroides inmaduras, y antes de completar su maduración, en la quinta semana de gestación, salen a la circulación y llegan a los espacios vasculares del hígado fetal. En esos momentos comienzan a surgir células eritroides inmaduras en el hígado. El hígado se llena progresivamente de precursores eritroides constituyéndose en el órgano fundamental de la eritropoyesis hasta la semana 30 de gestación. Aproximadamente al sexto mes, las cavidades de los huesos largos son invadidas por brotes vasculares y comienza progresivamente la producción eritroide. A partir del nacimiento, la eritropoyesis se realiza en la médula ósea. Las células eritroides embrionarias son grandes, nucleadas,

y tienen una apariencia megaloblástica. Los eritrocitos fetales son menores, pero macrocíticos y carecen de núcleo.

Los niveles de eritropoyetina (EPO) se incrementan entre la 9 y 32 semanas de gestación y el feto responde a la hipoxia o anemia con incremento de la EPO a partir de la semana 24. Los progenitores eritroides fetales, se ha visto que, son más sensibles a la EPO y al ligando-Kit que los progenitores adultos, pero su respuesta a las citocinas (IL-3 o G-CSF) es mínima, a diferencia de los adultos. Los cambios durante la ontogenia eritroide más ampliamente estudiados son los de las globinas. (4, 8, 9).

Todas las hemoglobinas humanas tienen una estructura tetramérica similar, compuesta por 2 cadenas de hemoglobina α y otras 2 del grupo β . Los diferentes tipos de hemoglobinas van apareciendo a lo largo del desarrollo según se van expresando los genes encargados de su síntesis. Durante la fase embrionaria se desarrollan progresivamente las hemoglobinas Gower I, Gower II y hemoglobina de Portland, Durante la transición de la eritropoyesis desde el saco vitelino hasta el hígado (6 a 9 semanas), los precursores eritroides en el hígado fetal coexpresan globinas fetales. El tipo fundamental de globina expresado durante la fase fetal de la eritropoyesis es la hemoglobina fetal (Hb F); que constituye el 90%-95% de la hemoglobina total hasta las semanas 34 a la 36 de gestación, descendiendo progresivamente durante los 6 primeros meses, hasta menos del 1% en el adulto. A partir de los 6 meses, la hemoglobina principal es la Hb A, que constituye el 96%-98% del contenido total de la hemoglobina. La Hb A₂, variante menor del adulto, representa el 1,5%-3%. (4).

El proceso de ontogénesis inmunológica y hematopoyética, se inicia en el saco vitelino, hígado y en su última fase en médula ósea. Dado que las células madre hematopoyéticas proceden del hígado, éstas deben modificar características de la superficie celular con objeto de facilitar la migración y ser aceptadas en el microambiente linfohematopoyético de otros órganos. La médula ósea humana se origina de una matriz cartilaginosa que se calcifica y fracciona posteriormente; en la 10ª semana del desarrollo se produce la llegada de osteoclastos. En 12ª semana las cavidades medulares están ocupadas exclusivamente por macrófagos y células estromales, los cuales producen citocinas también llamados factores estimuladores de colonias. Las primeras células hematopoyéticas aparecen en el timo sobre la semana 8 a 9 de gestación; un número significativo de linfocitos T simples con reactividad inmunológica, son detectables en el timo fetal a partir de la semana 13 y 14. Es entonces cuando el hígado comienza a aportar células madre hematopoyéticas, responsables del inicio de la linfo-hematopoyesis esplénica, de la médula ósea y linfática tisular: una migración activa que tiene lugar alrededor de la semana 15, determinante en el proceso de ontogénesis hematopoyética, no completándose el proceso de migración hepatomedular de células progenitoras hematopoyéticas del hígado hasta avanzada la semana 34 de gestación. De esta forma, existe un periodo ventana en el que

se están produciendo nuevos nichos, receptivos a posibles injertos de células progenitoras hematopoyéticas del hígado circulantes.

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) humanas cuentan con marcadores de superficie que consiste en la expresión de las moléculas CD34 y CD90 y la falta de expresión de la molécula CD38. La expresión de CD34 es una de las diferencias entre las CPH humanas y las murinas (siendo este el modelo animal más estudiado). La expresión de CD38 en las células CD34 marca el inicio de la diferenciación hematopoyética. Las células CD34+CD38- regeneran la hematopoyesis humana son capaces de autorrenovarse y diferenciarse, comportándose pues como CPH. (10, 11)

El desarrollo inmunológico humano, que transcurre preferentemente en el timo siendo modulado por células estromales tímicas, produce maduración de las células precursoras de linfocitos T y es modulado para inducir tolerancia antigénica. Dicha modulación ocasiona una serie de cambios somáticos que afectan a los genes que codifican la constitución de las subunidades α y β , ligandos antigénicos, y determinan la expresión clonal de los receptores de células T (RCT) heterodiméricos. Las moléculas accesorias de superficie CD4 y CD8 son las que estimulan la proliferación de RCT doble positivo de una célula aún inmadura; estas células son consecuencia de la interacción con el epitelio tímico estromal mediante el reconocimiento del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase I o II antigénico, origen de las células CD8 y CD4 respectivamente. Las nuevas células creadas CD4 y CD8 poseen ahora madurez inmunológica suficiente para desarrollar el proceso de selección negativa o delección a través del contacto con antígenos tímicos propios de células dendríticas. Como consecuencia del mencionado proceso, las CD4 y CD8 causan la delección de las células T con alta afinidad por antígenos propios junto a CMH propio, preservando el arsenal de células T con capacidad de respuesta sobre antígenos extraños.

Durante la ontogenia y a lo largo de la vida adulta, la producción de las células linfoides B y T, células NK, y algunas categorías de células dendríticas es un proceso dinámico y complejo. La población de PMPLs (progenitor multipotente de pre-instrucción linfóide) proveniente de células troncales multipotentes y no autorenovables de la médula ósea, contiene progenitores clonales con un potencial combinado de células T, B y mielóide, así como restringidos a linajes de B o T, y productores de células NK.

Aproximadamente la tercera parte de los PMPLs expresan con cierta heterogeneidad transcritos de genes linfoides como RAG1 (gen con actividad recombinante 1) o IL-7R α . A lo largo de su progreso, la disregulación de la molécula de adhesión VCAM-1 (molécula de adhesión a las células vasculares tipo 1) y la transcripción del locus de la enzima que recombina los segmentos genéticos VDJ (cadenas pesadas) de la inmunoglobulina y del TCR (receptor de células T), la recombinasa RAG1, marcan a las células que apenas inician el programa de diferenciación hacia la estirpe linfóide. Las células que expresan RAG-1 resulta en una serie de estados de diferenciación comenzando con la fracción c-kithiSca1+GFPIo y culminando

con c-kitlo/GFP^{hi}. Tanto en hígado fetal, como en médula ósea adulta, las células troncales y los progenitores mieloides residen en la fracción GFP⁻ (proteína fluorescente verde, la cual se usa como señal de la expresión), mientras que los progenitores linfoides en la GFP⁺. Los PLTs (progenitores linfoides tempranos) de la médula ósea adulta son parte de la población LSK, son primitivos en términos de marcadores de superficie (Lin⁻ckithiSca-1+Thy1.1-IL7-R⁻), factores de transcripción en contexto y tiempo requerido para diferenciarse; expresan TdT intracelular y CD27 y Flt3 en membrana. Tiene un alto potencial para generar todas las líneas de células linfoides, así como la capacidad de producir ciertas células del sistema inmune innato, sin embargo presenta pobre diferenciación mieloide. Los PLTs transcriben genes asociados a linajes linfoides como GATA-3, EBF, b29, e IL7R α y tanto en cultivo como *in vivo* dan origen a la fracción de Pro-linfocitos Lin⁻ckitloSca-1+Thy1.1-Flt3+GFP⁺, que ha desregulado la expresión de c-kit e incluye a la mayoría de los PLCs. Los PLCs expresan en la superficie celular el receptor de IL-7 (IL-7R α), y aunque muestran actividad clonogénica de T, B y NK, son bien reconocidos como los más eficientes precursores de linfocitos B; carecen de potencial de reconstitución a largo plazo y tienen la habilidad residual para generar células mieloides y dendríticas. La expresión de IL 7R α es distintivo de los PLCs, y su señalización esencial para el desarrollo de B y de T (FIG 1).

Dentro de la célula hay un compartimiento primitivo conocido con fracción A (FIG 2), el cual presenta un fenotipo B220+CD19-CD43+CD24^{lo}, dicho compartimiento fue identificado por Hardy en 1991. Identificando en la médula ósea las principales subpoblaciones que se diferenciarían hacia el linaje B y propuso el esquema de diferenciación río debajo de los PLCs. La fracción A consta de tres subpoblaciones definidas no yuxtapuestas: DX5⁻Ly6C⁺ (45- 55%), DX5⁺Ly6C⁻ (30-35%) y DX5⁻Ly6C⁻ (16-20%), siendo esta última la de capacidad precursora de células B (12, 13, 14). La reciente caracterización de células de linaje no-B dentro de las otras dos subpoblaciones (DX5⁻Ly6C⁺ y DX5⁺Ly6C⁻) y sus controversiales orígenes incrementan la complejidad del sistema linfo-hematopoyético. Por otro lado, la subpoblación de células DX5⁺Ly6C⁻ co-expresan el marcador NK1.1 y son expandibles en cultivos con IL-15, originalmente fueron descritas como híbridos fenotípicos y funcionales de células dendríticas y células NK y nombradas IKDC ('interferon-producido por células dendríticas asesinas'). Las células IKDC no son productoras eficientes de IFN α y se caracterizan por su poderosa capacidad citotóxica y de producción de IFN δ . Por el perfil de expresión génica, las IKDCs parecen tener una relación más cercana con células NK, tienen origen linfóide a partir de PMPLs, particularmente de los progenitores L-selectina⁺ (PSL), reconocidos por su potencial de células T, y de PLTs. En contraste, los reportes comparables de trasplante de progenitores linfoides en animales irradiados sugieren que las células NK clásicas B220⁻ son mayormente generadas por PLCs. En conclusión, parte de la Fracción A corresponde a células del sistema inmune innato, como las

IKDCs, que tienen su origen en progenitores linfoides muy tempranos y la diferenciación aparentemente es previa e independiente del compromiso de los precursores en la ruta de células B.

Durante la diferenciación de las células B, la regulación positiva de CD19 es considerada uno de los sellos más tempranos del compromiso al linaje B. Células denominadas pre-proB que residen en la Fracción A2 de Hardy, esto es, B220+CD19-CD43+CD24-/lo y fenotipo adicional AA4.1+CD4-, expresan IgH en línea germinal, además de genes que codifican para componentes de los receptores pre-B y B, tales como mb-1, B29 y $\lambda 5$, y factores de transcripción necesarios para la diferenciación, como Pax5 y E47. Más aún, esta población pre-proB B220+ despliega IL-7R α en membrana, y constituye la conexión entre las PLCs B220- y el estadio pro-B, que es B220+CD19+ y está mayormente comprometido al linaje B (12). Las células B tienen como objetivo expresar moléculas de inmunoglobulina funcionales en la membrana celular, además de una serie de factores de transcripción. PU.1, Ikaros, E2A, Bcl11a, EBF y Pax5 participan en los estadios de diferenciación y la especificación del linaje (15). PU.1 es expresado exclusivamente en células hematopoyéticas y su deficiencia ocasiona que Flt3 no sea regulado positivamente, y genes como EBF no sean expresados, y por consecuencia un posible defecto en los progenitores linfoides y el bloqueo de la diferenciación de células B. Ikaros, tiene un papel en los eventos más tempranos de la linfopoyesis; en su ausencia Flt3 no se expresa ocasionando un daño severo en el potencial de las células T y B. Bcl11a es requerido en el desarrollo de células pre-proB y su actividad parece preceder a la de EBF (factor temprano de célula B) y Pax5. E2A activa a RAG, y sus productos, directa o indirectamente, regulan la expresión de Pax5, el cual a su vez regula la expresión de genes específicos de células B, incluyendo CD19. Otros blancos de E2A, que participan en la señalización del receptor pre-B son mb-1, $\lambda 5$, VpreB y B29, así como RAG1/2 y TdT necesarios para el rearreglo de inmunoglobulinas. EBF comienza su expresión en las PLTs y continúa en todos los estadios de la diferenciación de B antígeno-independiente; y en coordinación con los productos de E2A, EBF es clave en el control previo al rearreglo de genes de inmunoglobulinas. Pax5 en el desarrollo de las células B, inhibe la transcripción de genes no linfoides y no B. Entonces, el desarrollo de progenitores multipotentes Flt3+ es dependiente de PU.1 e Ikaros, mientras que la especificación y el compromiso de las células pro-B representan mecanismos dependientes de E2A/EBF y Pax5, respectivamente (8). En los últimos años se ha reportado una población notable en médula ósea de células CD45R/B220-CD19+ carente de potencial de T y NK, pero contiene progenitores bipotenciales de células B y macrófagos, con la habilidad para generar células B1 CD19+B220loIgMhiIgDloCD43+CD23-Mac1+CD5-/+(47). Las células B1 constituyen una población menor de células B que se encuentran en alta proporción en las cavidades peritoneal y pleural formando parte posiblemente del sistema inmune innato, y aunque sus progenitores (B1P) son producidos más eficientemente durante la

embriogénesis, se ha visto que los mismos en la médula ósea adulta retienen cierto potencial.

Durante la diferenciación de las células T, el timo es el lugar principal para la producción de linfocitos T, sin embargo, no contiene ni produce progenitores de renovación autóloga, por lo que la linfopoyesis de las células T es mantenida por la importación periódica de pequeñas cantidades de progenitores hematopoyéticos a través de la corriente sanguínea a la inmediación tímica corteza-médula. Los progenitores linfoides identificados en la médula ósea que cuentan con la capacidad de reconstitución tímica se encuentran entre la fracción LSK con alta densidad de Flt3. Entre ellos, los progenitores L-selectina+ (PLS) y los PLT RAG1+ son candidatos efectivos en modelos de trasplante. Aunque la población de PLTs tiene mayor potencial de B que la de PLSs, ambos progenitores están presentes en la circulación periférica y tienen un gran potencial en la generación de timocitos CD4+CD8+.

Los timocitos pueden subdividirse en varias poblaciones: aproximadamente el 5% de ellos no expresan CD4 o CD8 (DN, doble negativos); el 80% expresan ambos CD4 y CD8 (DP, doble positivos), el 10% expresan sólo CD4 y el 5% sólo CD8. Las células DP provienen de timocitos DN, y tras desregular uno de los correceptores CD4 o CD8, se diferencian a linfocitos T unipositivos ya sea CD8 o CD4. En esta clasificación, los timocitos más primitivos (PTT, de 'progenitores tímicos tempranos') residen en la fracción DN, carecen de marcadores asociados con cualquier linaje hematopoyético, expresan altos niveles de c-kit, y despliegan L-selectina. Aunque la capacidad de los PTTs para generar células del linaje T es grande, también tienen cierto potencial de generar células B, NK, y mieloides, sugiriendo heterogeneidad en la población y/o plasticidad celular.

La población DN puede ser subdividida en 4 estadios de desarrollo basados en la expresión diferencial de CD44 y CD25, madurando desde CD44+CD25- (DN1) a CD44+CD25+ (DN2) a CD44-CD25+ (DN3) y hasta CD44-CD25- (DN4). Los DN1 se dividen en 5 subpoblaciones de acuerdo a los niveles de expresión de c-kit y CD24. Las dos subpoblaciones de mayor densidad de c-kit, DN1a y DN1b, son potentes progenitores de T con casi nulo potencial de B. Por lo tanto, a menos que ellos cambiaran rápidamente sus características al momento de entrada, los candidatos más probables para colonizar el timo debieran ser Lin-CD24-/loCD25-Thy1-Sca1+c-kithiFlt3+CD44+L-sel+. Este fenotipo es similar a los Lin-c-kithiL-selectina+RAG- PLSs, lo que sugiere que es la población de PLSs, y no la de PLTs, que en condiciones normales pudiera participar en la timopoyesis temprana (17).

Son muchos los factores que participan en el proceso de las células T, como algunas citocinas y la señalización a través de los receptores Notch, son críticamente requeridos en los eventos tempranos del desarrollo. Se piensa que la interleucina 7 (IL-7) y el factor de células progenitoras (FCP) funcionan en el soporte de la supervivencia (8, 18) y proliferación de los precursores tímicos, mientras que los receptores Notch realizan una serie de reacciones

importantes para el compromiso y la decisión del linaje. La inhibición inducible de Notch1 bloquea la diferenciación a nivel de DN1, y el aumento de células B en el timo, y al revés, la sobre-expresión de Notch1 en los progenitores hematopoyéticos promueve el desarrollo de células de T en médula ósea, apoyando su indiscutible papel en la determinación de células B/T. Estos datos indican que el microambiente tímico tiene la capacidad de enviar señales firmes a través de Notch a las células colonizadoras.

Después del nacimiento, se producen las células sanguíneas en la médula ósea. El desarrollo de la cavidad de médula ósea es una estrategia coordinada en donde las células progenitoras hematopoyéticas migran colonizándolos los espacios óseos y el cartilago embrionario. El estroma celular de la medula ósea está formada por células mesenquimales las cuales tiene la capacidad de secretar proteínas se comportan como proteínas de adhesión y receptores entre la matriz extracelular y las células progenitoras hematopoyéticas, esta interacción forma nichos estableciéndose un microambiente en donde se desarrollan y diferencian las células progenitoras hematopoyéticas, además de permanecer quiescentes (21). Otras células que sirven de apoyo de células del estroma en la medula ósea son los fibroblastos reticulares, macrófagos, adipocitos y células endoteliales y los osteoblastos los cuales son derivados de un precursor común. Se ha visto que estos últimos expresan RNA mensajero de factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G) (23), el factor estimulante de granulocitos macrófagos (FEC-GM) (23), IL-1 (25), IL-1b(25-27), IL-6 (23, 25-28), el factor de crecimiento transformador beta (TGF-b) (25, 26), y factor de necrosis tumoral- α (FNT- α) (23, 27), pero no IL-3 (23), IL-4 (26), o IL-8 (26). A nivel de la síntesis de proteínas, los osteoblastos producen FEC-G (23), el FEC-GM (23), IL-1b (29), IL-6 (29, 35), factor inhibidor de leucemia (FIL) (31), FNT- α (33), y, factor de crecimiento endotelial vascular, dichas citocinas solas o en colaboración con otras ayudan a la hematopoyesis (FIG 3).

El microambiente que proporciona la medula ósea a las CPH y a los progenitores primarios ocasiona la interacción de las células y la exposición a concentraciones variables de citocinas. El soporte linfo-hematopoyético está dado por las células estromales, osteoblastos y células endoteliales, teniendo además la capacidad de elaborar una variedad de moléculas de adhesión que les permiten responder bidireccionalmente a los estímulos producidos por las células vecinas. El nicho hematopoyético mantiene a las CPHs en periodos de prolongada quiescencia en los cuales aproximadamente el 70% de las células están en G0, muy probablemente debido a la expresión de factores genéticos intrínsecos que inhiben el ciclo celular, como p21 y pTEN, así como a la actividad de diversas moléculas de adhesión (38, 39). La activación de la CPH, producen la autorenovación o división celular asimétrica. Algunos estudios, comentan que la mayoría de los progenitores linfoides tempranos pasan un tiempo considerable en G0, y aún cuando los componentes del nicho hematopoyético que sostiene a las células progenitoras multipotentes no se conocen, esta condición quiescente puede

ser importante en el control del tamaño de la población y para la integridad de las células que reabastecen el sistema inmune a lo largo de la vida.

Sobre el origen de las CPH se formulan dos hipótesis:

1) o bien son creadas de (nuevo) novo en cada uno de los lugares donde se observa actividad hemopoyética durante la embriogénesis, 2) o bien el saco vitelino o la región del embrión llamada AGM (aorta- gónada- mesonefro) son los lugares de nacimiento de las CPH que constituirán luego el sistema hemopoyético definitivo. Esta última hipótesis, que es la más aceptada, sugiriendo que las CPH se presentan primero en el saco vitelino y la región de la aorta/de la gónada/de los mesonefros (AGM) (42), y se piensan que migran desde estos lugares para sembrarse en el hígado fetal, timo, bazo y médula ósea (42). Posteriormente se convertirán el sistema hematopoyético definitivo del adulto. En el adulto, la capacidad de células hematopoyéticas para utilizar la sangre como mecanismo del tránsito para la migración a partir de un órgano a otro fue demostrada hace más de 40 años (42, 43), pero la migración en la circulación sanguínea es una característica no sólo de glóbulos maduros, pero también de la célula madre hematopoyética.

Las células CD34+CD38- regeneran la hematopoyesis humana tras el trasplante en estos receptores, mientras que las CD34+ CD38+ no lo hacen. Esta diferencia de capacidad regenerativa demuestra que las células CD34+CD38- son capaces de autorrenovarse y diferenciarse, comportándose pues como CMH (11) (FIG 4).

Las células hemáticas derivadas de la sangre de cordón umbilical se propusieron como tratamiento al observar la presencia de células progenitoras hematopoyéticas con capacidad e autorrenovarse y totipotenciales. Dicha cantidad de células iguala o excede al de la medula ósea y sobrepasa a las de sangre adulta.

Actualmente ya se han realizado trasplantes de células progenitoras de la sangre del cordón umbilical con éxito entre las que se incluyen pacientes con enfermedades benignas como malignas.

Mayani y colaboradores han reportado el contenido de células formadora de colonias (CFC) en la sangre de cordón umbilical humano (SCUH). Tales estudios indican que 1 ml SCUH hay cerca de 8,000 progenitores eritroides primitivos (BFU-E), entre 13,000 y 24,000 progenitores mieloides (unidad formadora de colonias de granulocitos/macrófago [CFU-GM]), y entre 1,000 y 10,000 (CFU granulocitos/ eritroide/ macrófago/ megacariocitos [CFUGEMM]) (45).

Para que un paciente trasplantado tenga las mejores posibilidades de injerto y supervivencia al trasplante, la cantidad de células necesarias se basa en su peso (por ejemplo de 2 a 3.5×10^7 células nucleadas/Kg), edad y estado de su enfermedad. Las células CD34+ presentes en la sangre de cordón umbilical constituyen a población muy heterogénea. La gran mayoría de estas células expresan los antígenos HLA-DR y CD38, dicha expresión es mayor que las células progenitoras obtenidas de la medula ósea de un adulto siendo aproximadamente el 4% comparada contra el 1% de la MO. Apoyando el

hecho de tener un mayor número de células progenitoras hematopoyéticas en comparación con la MO del adulto. Las células CD34+ pueden ser separadas por la expresión de CD45RA y de CD71 identificando las células multipotenciales que se diferenciarán en células progenitoras mieloides, linfoides y eritroides respectivamente. Se ha demostrado que las células CD34+ son capaces de reconstituir la hematopoyesis, ya que una proporción significativa de células progenitoras CD34+ expresa Thy-1 (CD90). La función de Thy-1 en HSPC es actualmente desconocido; sin embargo, se ha sugerido que Thy-1 está implicado adentro el desarrollo hematopoyético de la célula, mediando una señal negativa que posiblemente da lugar a la inhibición de la proliferación de célula. Por otra parte, se encuentra el proto-oncogen c-kit, el cual codifica un receptor transmembrana (CD117) con actividad de tirosina cinasa, que se expresa en las células progenitoras hematopoyéticas (CPH). El ligando para c-kit, es el factor steel, quien es un factor de crecimiento celular, y juega un papel relevante en viabilidad y la proliferación de las CPH. El 90% de las células CD34+ coexpresan FLT3 (CD135), el receptor de la citocina de acción temprana del ligando FLT3 (FL), y el 5% expresa el receptor del factor estimulante de colonias de los macrófagos (CD115).

Con lo anterior se documentado que en las células CD34+ tienen expresión de células linfoides y mieloides, hay grupos que reportan que la MO de adulto cuenta con un 25% de las células de CD34+ expresan CD10 y el 18% CD19, las células de CD10+CD19+ son raras dentro de la población de la célula de CD34+ de SCU. Mientras, CD13 parece ser expresado en la mayoría de células de SCU CD34+, y CD33 está también extensamente expresado en estas células, pero se encuentra ausente en las células más primitivas de CD34+. Sin embargo, se han observado que varias moléculas de adhesión de célula están presentes en las células de SCU CD34+, similares a los observados en células del MO CD34+.

En teoría todas las células de CD34+ expresan cadenas del integrinas CD11a y CD18, indicando la presencia de heterodímeros 1 (LFA-) antígenos con función asociada a leucocitos. Todas las células de CD34+ expresan el ligando LFA-1, ICAM-1. Igualmente, se expresan fuertemente LFA-3 (CD58) en las células de SCU CD34+. Las integrinas de la familia b1, VLA-4 y 5 también están presente en las células CD34+. Finalmente, CD44 y LAM-1, receptores de adhesión, se han encontrado para ser expresados fuertemente en las células de SCU CD34+ (45,46).

Hasta que ocurra el injerto, los pacientes corren riesgos de tener infecciones potencialmente mortales. Por lo que, los receptores de trasplantes de sangre del cordón umbilical pueden ser vulnerables a infecciones durante un promedio de uno a dos meses más que los receptores de células progenitoras de médula ósea o de sangre periférica.

Se ha estimado in vitro que la frecuencia de regeneración en humanos que recibieron trasplante de células de SCU es tres veces más rápida que la MO y 6 veces mayor que las células de sangre periférica (SP) (45, 46, 47, 48, 49).

Se ha observado que el trasplante de células progenitoras derivadas de sangre periférica (TCPHSP) se ha convertido en una elección óptima, sustituyendo al de la médula ósea (MO) como la fuente de dichas células debido en gran parte a la cinética del injerto y la facilidad de la recolección. Las células de progenitoras hematopoyéticas se encuentran normalmente en un número muy limitados en la circulación periférica (menos de 0.1% de todas las células nucleadas), representando una subpoblación de las células CD34+. Aunque morfológicamente sea difícil identificarlas, estas células se puedan distinguir por la presencia de antígenos leucocitario humano (HLA) de la clase II (DR) y patrones inmunofenotípicos como CD34+/CD38-/Lin-/Thy-1+ (CDw90). Estas células no expresan antígenos CD38 y tiene la capacidad de autorenovación, y son responsables de la reconstitución a largo plazo, y además se ha reportado que dichas células expresan más antígenos de diferenciación específicos de linaje (por ejemplo CD13, CD33), tiene una menor proporción de células en fase S haciéndolas menos activas en el ciclo celular y metabólicamente, demostrando menos positividad en CD71 (50, 51, 11). La mayor circulación de subtipos de células CD34+ son CD34+Thy-1^{dim} en un 30% y CD34+Thy-1^{dim}CD38- en un 2.5%. (52)

Algunos autores han demostrado que los epítopes del complejo mayor de histocompatibilidad clase I CD34 se disminuyeron en muestras después de ser congeladas con dimetil sulfoxido (DMSO), mientras que la clase II y los epítopes de la clase III fueron preservadas mejor(51).

La cantidad de células nucleadas que deben infundirse van de 2×10^6 células/Kg a 3×10^6 /kg. Dosis menores se ha visto 3 veces más asociadas a citopenias prolongadas o incremento de la mortalidad temprana (51).

Aún no sabemos cómo las células progenitoras hematopoyéticas son instruidas para salir de la médula ósea e injertar como células no hematopoyéticas. El control de esta diferenciación de células madre de médula ósea a tipos celulares hematopoyéticos y no hematopoyéticos pudiera involucrar el microambiente de las células, primero al movilizar las células fuera de la médula y después reclutarlas al tejido dañado de la médula ósea. El ambiente prototipo de la células madre es un nicho en el cual la programación de las células pluripotenciales depende de las células adyacentes y los ligandos unidos a membrana y solubles circundantes. Muchos aspectos del microambiente de la médula ósea que controlan el anidamiento y adhesión de las células progenitoras hematopoyéticas han sido aclaradas y es posible que muchos de las mismas citocinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión que regulan las células progenitoras hematopoyéticas en la médula ósea también juegan un papel al regular las células progenitoras trasplantadas (53, 55).

X. BIBLIOGRAFIA

1. M. Wu b.m., j. E. Till ph.d., I. Siminovitch ph.d., and e. A. McCulloch m.d. Cytological evidence for a relationship between normal hematopoietic colony-forming cells and cells of the lymphoid system. *JEM* 1968;127:455-464
2. Jordan CT. Cellular and developmental properties of fetal hematopoietic Stem cells. *Cell* 1990; 61: 953–963.
3. AJ Wagers, JL Christensen¹ and IL Weissman. *Cell fate determination from stem cells*. *Gene Therapy* 2002; 9: 606–612
4. Catalina C.Bianchi De Di Risio, Pablo Argibay. Características de las células primordiales germinales Murinas y su relacion con la hemopoyesis. *Medicina* 2001; 61: 491-494.
5. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 387-403.
6. Baba Y, Pelayo R, Kincade PW. Relationships between hematopoietic stem cells and lymphocyte progenitors. *Trends Immunol* 2004;25: 645-649.
7. Tannishtha Reya. Regulation of Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal Recent Progress in Hormone Research 2003; 58:283-295
8. Graf T., Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood* 2002 99: 3089-3101
9. Rich I. Primordial Germ Cells Are Capable of Producing Cells of the Hematopoietic System In Vitro. *Blood* 1995; 86: 463-472.
10. Ramirez M. Fisiología de la hematopoyesis. *Pediatr integral* 2004;VIII(5): 377-382.
11. Meldgaard L., Jensen L., Jarlbaek L., Gram Poul, et al. Subsets of CD34⁺ hematopoietic progenitors and plaquetelet recovery after high dose chemotherapy and peripheral blood stem cell transplantation. *Haematologica* 1999;84:517-524.
12. Rumfelt LL, Zhou Y, Rowley BM, Shinton SA, Hardy RR. Lineage specification and plasticity in CD19-early B cell precursors. *J Exp Med* 2006; 203: 675-687.
13. *Li YS, Wasserman R, Hayakawa K, Hardy RR. Identification of the earliest B lineage stage in mouse bone marrow. *Immunity* 1996; 5:527-535.
14. *Tudor KS, Payne KJ, Yamashita Y, Kincade PW. Functional assessment of precursors from murine BM suggests a sequence of early B lineage differentiation events. *Immunity* 2000; 12: 335-345.

15. Pelayo R, Welner RS, Nagai Y, Kincade PW. Life before the pre-B cell receptor checkpoint: specification and commitment of primitive lymphoid progenitors in adult bone marrow. *Sem Immunol* 2006; 18: 2-11.
16. *Ceredig R, Rolink T. A positive look at double-negative thymocytes. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 888-897.
17. Perry SS, Welner RS, Kouro T, Kincade PW, Sun XH. Primitive lymphoid progenitors in bone marrow with T lineage reconstituting potential. *J Immunol* 2006; 177: 2880-2887.
18. Majka M., Janowska-Wieczorek A., Ratajczak J., Ehrenman K., et al. Numerous growth factors, cytokines, and chemokines are secreted by human CD34 cells, myeloblasts, erythroblasts, and megakaryoblasts and regulate normal hematopoiesis in an autocrine/paracrine manner. *Blood* 2001; 97: 3075-3085.
19. *Lord BI. The architecture of bone marrow cell populations. *Int J Cell Cloning* 1990;8:317-331.
20. *Maloney M, Patt H. Stem cells of renewing populations. In: Cairnie A, ed. *Regulation of Stem Cells After Local Bone Marrow Injury: the Role of an Osseous Environment*. New York: Academic Press, 1976:239-253.
21. Nilsson S, Debatis M, Quesenberry P et al. Extracellular matrix regulation of stem cell homing. *Blood* 1996;88(suppl1):632a.
22. *Gong J. Endosteal marrow: a rich source of hematopoietic stem cells. *Science* 1978;199:1443-1445.
23. Dexter TM, Spooner E. Growth and differentiation in the hemopoietic system. *Ann Rev Cell Biol* 1987;3:432-441.
24. *Weir EC, Insogna KL, Horowitz MC. Osteoblast-like cells secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in response to parathyroid hormone and lipopolysaccharide. *Endocrinology* 1989;124:899-904.
25. Ralston SH. Analysis of gene expression in human bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence for enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994;9:883-890.
26. Birch MA, Ginty AF, Walsh CA et al. PCR detection of cytokines in normal human and pagetic osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 1993;8:1155-1162.
27. Dodds RA, Maerry K, Littlewood A et al. Expression of mRNA for IL1b, IL6 and TGFb1 in developing human bone and cartilage. *J Histochem Cytochem* 1994;42:733-744.
28. Zheng MH, Wood DJ, Wysocki S et al. Recombinant human bone morphogenic protein-2 enhances expression of interleukin- 6 and transforming growth factor-beta 1 genes in normal human osteoblast-like cells. *J Cell Physiol* 1994;159:76-82.

29. Marie PJ, Hott M, Launay JM et al. In vitro production of cytokines by bone surface-derived osteoblastic cells in normal and osteoporotic postmenopausal women: relationship with cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:824-830.
30. *Marusic A, Kalinowski J, Jastrzebski S et al. Production of leukemia inhibitory factor mRNA and protein by malignant and immortalized bone cells. *J Bone Miner Res* 1993;8:617-624.
31. Greenfield E, Horowitz M, Lavish S. Stimulation by parathyroid hormone of interleukin-6 and leukemia inhibitory factor expression in osteoblasts is an immediate-early gene response induced by cAMP signal transduction. *J Biol Chem* 1996;271:10984-10989.
32. *Osawa M, Hanada K, Hamada H et al. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 1996;273:242-245.
33. Gowen M, Chapman K, Littlewood A et al. Production of TNF by human osteoblasts is modulated by other cytokines but not by osteopetrotic hormones. *Endocrinology* 1990;126:1250-1255.
34. *Goad D, Rubin J, Wang H et al. Enhanced expression of vascular cell endothelial growth factor in human SaOS-2 osteoblast-like cells and murine osteoblasts induced by insulin-like growth factor I. *ENDO* 1996;137:2262-2268.
35. Taichman RS, Reilly MJ, Verma RS et al. Augmented production of interleukin-6 by normal human osteoblasts in response to CD34+ hematopoietic bone marrow cells in vitro. *Blood* 1997;89:1165-1172.
36. *Cheng T, Rodrigues N, Shen H, Yang Y, Dombkowski D, Sykes M, et al. Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21cip1/waf1. *Science* 2000; 287: 1804-1808.
37. *Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, et al. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 2004; 118: 149-161.
38. Suda T, Arai F, Hirao A. Hematopoietic stem cells and their niche. *Trends Immunol* 2005; 26: 426-433.
39. Zhang J, Grindley JC, Yin T, Jayasinghe S, He XC, Ross JT, et al. PTEN maintains hematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention. *Nature* 2006; 441: 518-522.
40. *Medvinsky A, Dzierzak E. Definitive hematopoiesis is autonomously initiated by the AGM region. *Cell* 1996; 86: 897-906.
41. *Sanchez MJ, Holmes A, Miles C, Dzierzak E. Characterization of the first definitive hematopoietic stem cells in the AGM and liver of the mouse embryo. *Immunity* 1996; 5: 513-525.
42. Weissman IL. Thymus cell migration. *J Exp Med* 1967; 126:291-304.
43. Bryder D., Rossi D., Weissman I. Biological Perspectives Hematopoietic Stem Cells *The Paradigmatic Tissue-Specific Stem Cell. The American Journal of Pathology, 2006; 16:338-346*

44. Grewal S., Barker J., Davies S., Wagner E. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood* 2003; 101: 4232-4244.
45. Mayani H., Lansdorp P. Biology of Human Umbilical Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Stem Cells* 1998;16:153-165
46. Wang JCY, Doedens M, Dick JE. Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. *Blood* 1997;89:3919-3924.
47. Abboud M, Xu F, La Via M et al. Study of early hematopoietic precursors in human cord blood. *Exp Hematol* 1992;20:1043-1047.
48. Traycoff CM, Abboud MR, Laver J et al. Evaluation of the in vitro behavior of phenotypically defined populations of umbilical cord blood hematopoietic progenitor cells. *Exp Hematol* 1994;22:215-222.
49. Lu L, Xiao M, Shen R-N et al. Enrichment, characterization and responsiveness of single primitive CD34⁺⁺⁺ human umbilical cord blood hematopoietic progenitors with high proliferative and replating potential. *Blood* 1993;81:41-48.
50. Sampol A., Besalduch J., Galmés A., Bargay J., et al. CD34⁺ cell dose and CD33⁻ subsets: collection and engraftment kinetics in autologous peripheral blood stem cells transplantation. *Hematologica* 1998;83:489-49
51. Cutler C., Antin J. Peripheral Blood Stem Cells for Allogeneic Transplantation: A Review *Stem Cells* 2001;19:108-117
52. *Körbling M., Huh YO, Durett A., Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34⁺Thy^{dim}) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and GVHD. *Blood* 1995;86:2500-2508.
53. Srouf EF, Jetmore A, Wolber FM, et al. Homing, cell cycle kinetics and fate of transplanted hematopoietic stem cells. *Leukemia*. 2001;15:1681-1684.
54. *Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit ligand. *Cell*. 2002;109:625-637.
55. Wright DE, Bowman EP, Wagers AJ, Butcher EC, Weissman IL. Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines. *J Exp Med*. 2002;195:1145-1154.

CLASIFICACION DE LA EVIDENCIA CIENTIFICA

Nivel I (mas alto) IX (más bajo)	Fuerza de la evidencia	Tipo de diseño del estudio	Condiciones de rigor científico
I	Adecuada	Meta-análisis de ensayos controlados y aleatorizados	Análisis de datos Individuales de los pacientes Metarregresión Megaanálisis Diferentes técnicas de análisis No heterogeneidad
II		Ensayo controlado y aleatorizado de muestra grande	Evaluación del poder estadístico multicéntrico
III	Buena a regular	Ensayo controlado y aleatorizado de muestra pequeña	Evaluación del poder estadístico
IV		Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo multicéntrico
V	Regular	Ensayos clínicos no aleatorizados retrospectivo	Controles históricos
VI		Estudios de cohortes	Multicéntrico Apareamiento
VII		Estudios de casos y controles	Multicéntrico
VIII	Pobre	Series clínicas no controladas Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica, encuestas, registros, bases de datos, estudios de prevalencia Comités de expertos, conferencias de consenso	multicéntrico
IX		Anécdotas o casos clínicos	

	AUTORES	NOMBRE DE ARTICULO	BIBLIOGRAFIA	NIVEL DE EVIDENCIA	TIPO DE DISEÑO	CONDICIONES DE RIGUROSIDAD CIENTIFICA
1	M. Wu b.m., j. E. Till ph.d., I.	Siminovitch ph.d., and e. A. McCulloch m.d. Cytological evidence for a relationship between normal hematopoietic colony-forming cells and cells of the lymphoid system.	JEM 1968;127:455-464	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo Multicentrico
2	Jordan CT	Cellular and developmental properties of fetal hematopoietic Stem cells	Cell 1990; 61: 953-963	VI	Estudios decohorte	Multicéntrico Apareamiento
3	AJ Wagers, JL Christensen ¹ and IL Weissman	<i>Cell fate determination from stem cells</i>	Gene Therapy 2002; 9: 606-612	VIII	Estudios descriptivos: revisión	Multicéntrico
4	Bianchi De Di Risio C., Argibay P.	Características de las células primordiales germinales Murinas y su relación con la hemopoiesis	Medicina 2001; 61: 491-494.	VIII	Estudios descriptivos: base de datos	Multicéntrico
5	Weissman IL, Anderson DJ, Gage F	Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations	Annu Rev Cell Dev Biol 2001; 17: 387-403	VIII	Estudios descriptivos: base de datos	Multicéntrico

6	Baba Y, Pelayo R, Kincade PW	Relationships between hematopoietic stem cells and lymphocyte progenitors	Trends Immunol 2004;25: 645-649	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
7	Tannishth a Reya	Regulation of Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal	Recent Progress in Hormone Research 2003; 58:283-295	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica ,encuestas, registros, bases de datos	Multicéntrico
8	Graf T.	Differentiation plasticity of hematopoietic cells	Blood 2002 99: 3089-3101	V	Ensayos prospectivo controlado no aleatorizado	Controles históricos
9	Rich I	Primordial Germ Cells Are Capable of Producing Cells of the Hematopoietic System In Vitro	Blood 1995; 86: 463-472.	III	Ensayo controlado y aleatorizado de muestra pequeña	Evaluación del poder estadístico

10	Ramírez M	Fisiología de la hematopoyesis	Pediatr integral 2004;VIII(5): 377-382	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica, encuestas, registros, bases de datos, Comités de expertos	Multicéntrico
11	Meldgaard L., Jensen L., Jarlbaek L., Gram Poul, et al	Subsets of CD34 ⁺ hematopoietic progenitors and platelet recovery after high dose chemotherapy and peripheral blood stem cell transplantation	Haematologica 1999;84:517-524	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo Multicéntrico
12	Rumfelt LL, Zhou Y, Rowley BM, Shinton SA, Hardy RR.	Lineage specification and plasticity in CD19-early B cell precursors	J Exp Med 2006; 203: 675-687.	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
* 13	Li YS, Wasserman R, Hayakawa K, Hardy RR	Identification of the earliest B lineage stage in mouse bone marrow	Immunity 1996; 5:527-535	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento

* 14	Tudor KS, Payne KJ, Yamashita Y, Kincade PW.	Functional assessment of precursors from murine BM suggests a sequence of early B lineage differentiation events	Immunity 2000; 12: 335-345	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Centros coincidentes en el tiempo Multicéntrico
15	Pelayo R, Welner RS, Nagai Y, Kincade PW	Life before the pre-B cell receptor checkpoint: specification and commitment of primitive lymphoid progenitors in adult bone marrow	Sem Immunol 2006; 18: 2-11	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica, encuestas, registros, bases de datos, estudios de prevalencia	Multicéntrico
* 16	Ceredig R, Rolink T	A positive look at double-negative thymocytes.	Nat Rev Immunol 2002; 2: 888-897	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
17	Perry SS, Welner RS, Kouro T, Kincade PW, Sun XH	Primitive lymphoid progenitors in bone marrow with T lineage reconstituting potential	J Immunol 2006; 177: 2880-2887.	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento

18	Majka M. , Janowska - Wieczorek A., Ratajczak J., Ehrenman K., et al	Numerous growth factors, cytokines, and chemokines are secreted by human CD34 cells, myeloblasts, erythroblasts, and megakaryoblasts and regulate normal hematopoiesis in an autocrine/paracrine manner	Blood 2001; 97: 3075-3085.	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
* 19	Lord BI	The architecture of bone marrow cell populations	Int J Cell Cloning 1990;8:317-331	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
* 20	Maloney M, Patt H	Stem cells of renewing populations. In: Cairnie Aed. Regulation of Stem Cells After Local Bone Marrow Injury: the Role of an Osseous Environment	New York: Academic Press, 1976:239-253.	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
21	Nilsson S, Debatis M, Quesenberry P et al	Extracellular matrix regulation of stem cell homing	Blood 1996;88(suppl1):632a.	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica ,encuestas, registros, bases de datos Comités de expertos	Multicéntrico
* 22	Gong J	Endosteal marrow: a rich source of hematopoietic stem cells	Science 1978;199:1443-1445.	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
23	Dexter TM, Sponcer E	Growth and differentiation in the hemopoietic system	Ann Rev Cell Biol 1987;3:432-441	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento

* 24	Weir EC, Insogna KL, Horowitz MC	Osteoblast-like cells secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in response to parathyroid hormone and lipopolysaccharide	Endocrinology 1989;124:899-904	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
25	Ralston SH	Analysis of gene expression in human bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence for enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis	J Bone Miner Res 1994;9:883-890	VIII	Estudios descriptivos: estudios de prevalencia	Multicéntrico
26	Birch MA, Ginty AF, Walsh CA et al	PCR detection of cytokines in normal human and pagetic osteoblast-like cells	J Bone Miner Res 1993;8:1155-1162	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico
27	Dodds RA, Maerry K, Littlewood A et al	Expression of mRNA for IL1b, IL6 and TGFb1 in developing human bone and cartilage	J Histochem Cytochem 1994;42:733-744	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico

28	Zheng MH, Wood DJ, Wysocki S et al	Recombinant human bone morphogenic protein-2 enhances expression of interleukin-6 and transforming growth factor-beta 1 genes in normal human osteoblast-like cells	J Cell Physiol 1994;159:76-82	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico
29	Marie PJ, Hott M, Launay JM et al	In vitro production of cytokines by bone surface-derived osteoblastic cells in normal and osteoporotic postmenopausal women: relationship with cell proliferation	J Clin Endocrinol Metab 1993;77:824-830	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico
* 30	Marusic A, Kalinowski J, Jastrzebski S et al	Production of leukemia inhibitory factor mRNA and protein by malignant and immortalized bone cells	J Bone Miner Res 1993;8:617-624	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico

31	Greenfield E, Horowitz M, Lavish S	Stimulation by parathyroid hormone of interleukin-6 and leukemia inhibitory factor expression in osteoblasts is an immediate-early gene response induced by cAMP signal transduction	J Biol Chem 1996;271:10984-10989	VI	Estudio de cohortes	Multicéntrico Apareamiento
* 32	Osawa M, Hanada K, Hamada H et al	Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell	Science 1996;273:242-245.	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica, encuestas, registros, bases de datos, estudios de prevalencia Comités de expertos, reportes, conferencias de consenso	Multicéntrico
33	Gowen M, Chapman K, Littlewood A et al	Production of TNF by human osteoblasts is modulated by other cytokines but not by osteopetrotic hormones	Endocrinology 1990;126:1250-1255	VII	Estudios de casos y controles	Multicéntrico
* 34	Goad D, Rubin J, Wang H et al	Enhanced expression of vascular cell endothelial growth factor in human SaOS-2 osteoblast-like cells and murine osteoblasts induced by insulin-like growth factor I	ENDO 1996;137:2262-2268.	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo Multicéntrico

35	Taichman RS, Reilly MJ, Verma RS et al.	Augmented production of interleukin-6 by normal human osteoblasts in response to CD34+ hematopoietic bone marrow cells in vitro	Blood 1997;89:1165-1172.	VI	Estudio de cohortes	Multicentrico, apareamiento,
* 36	Cheng T, Rodrigues N, Shen H, Yang Y, Dombkowski D, Sykes M, et al.	Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21 ^{Cip1/Waf1}	Science 2000; 287: 1804-1808.	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo Multicéntrico
* 37	Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, et al	Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche	Cell 2004; 118: 149-161.	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo Multicéntrico
38	Suda T, Arai F, Hirao A.	Hematopoietic stem cells and their niche	Trends Immunol 2005; 26: 426-433	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica, encuestas, registros, bases de datos, estudios de prevalencia Comités de expertos, conferencias de consenso	Multicéntrico

39	Zhang J, Grindley JC, Yin T, Jayasingh e S, He XC, Ross JT, et al	PTEN maintains hematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention	Nature 2006; 441: 518-522	I	Metaanálisis de ensayos controlados y aleatorizados	No heterogeneidad Diferentes técnicas de análisis Metarregresión Megaanálisis
* 40	Medvinsky A, Dzierzak E	Definitive hematopoiesis is autonomously initiated by the AGM region	Cell 1996; 86: 897-906	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica encuestas, registros, bases de datos Comités de expertos	Multicéntrico
* 41	Sanchez MJ, Holmes A, Miles C, Dzierzak E	Characterization of the first definitive hematopoietic stem cells in the AGM and liver of the mouse embryo	Immunity 1996; 5: 513-525.	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica encuestas, registros, bases de datos Comités de expertos	Multicéntrico
42	Weissman IL	Thymus cell migration	<i>J Exp Med</i> 1967; 126:291-30414	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo Multicéntrico

43	Bryder D., Rossi D., Weissman I	Biological Perspectives Hematopoietic Stem Cells <i>The Paradigmatic Tissue-Specific Stem Cell</i>	The American Journal of Pathology, 2006; 169:338-346	VIII	Seriec clinicas no controladas Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica encuestas, registros, bases de datos Comités de expertos	Multicéntrico
44	Grewal S., Barker J., Davies S., Wagner E.	Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood?	Blood 2003; 101: 4232-4244.	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
45	Mayani H., Lansdorp P	Biology of Human Umbilical Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells	Stem Cells 1998;16:153-165	V	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles históricos
46	Wang JCY, Doedens M, Dick JE	Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay	Blood 1997;89:3919-3924.	VI	Studio de cohortes	Multicéntrico Apareamiento

47	Abboud M, Xu F, La Via M et al	Study of early hematopoietic precursors in human cord blood	Exp Hematol 1992;20:1043-1047	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico
48	Traycoff CM, Abboud MR, Laver J et al	Evaluation of the in vitro behavior of phenotypically defined populations of umbilical cord blood hematopoietic progenitor cells	Exp Hematol 1994;22:215-222.	VIII	Artículo de revisión	Multicéntrico
49	Lu L, Xiao M, Shen R-N et al	Enrichment, characterization and responsiveness of single primitive CD34+++ human umbilical cord blood hematopoietic progenitors with high proliferative and replating potential	Blood 1993;81:41-48	VI	Estudios de cohortes	Multicéntrico apareamiento
50	Sampol A., Besalduch J., Galmés A., Bargay J., et al.	CD34+ cell dose and CD33- subsets: collection and engraftment kinetics in autologous peripheral blood stem cells transplantation	Hematologica 1998;83:489-49	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
51	Cutler C., Antin J	Peripheral Blood Stem Cells for Allogeneic Transplantation: A Review	Stem Cells 2001;19:108-117	I	Metaanálisis de ensayos controlados y aleatorizados	No heterogeneidad Diferentes técnicas de análisis Metarregresión Megaanálisis

* 52	Körbling M., Huh YO, Durett A.,	Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+Thy ^{dim}) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and GVHD	Blood 1995;86:2500-2508.	VI	Estudio de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
53	Srouf EF, Jetmore A, Wolber FM, et al	Homing, cell cycle kinetics and fate of transplanted hematopoietic stem cells	Leukemia. 2001;15:1681-1684.	VIII	Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica , encuestas, registros, bases de datos, estudios de prevalencia Comités de expertos, conferencias de consenso	Multicéntrico
54	Heissig B, Hattori K, Dias S, et al	Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kitligand	Cell. 2002;109:625-637.	IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado Controles coincidentes en el tiempo	Multicéntrico

55	Wright DE, Bowman EP, Wagers AJ, Butcher EC, Weissman IL	Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines	J Exp Med. 2002;195:1145-1154.	VI	Estudios de cohorte	Multicéntrico Apareamiento
----	---	---	-----------------------------------	----	---------------------	-------------------------------

*ARTICULOS EXCLUIDOS DE LA REVISION

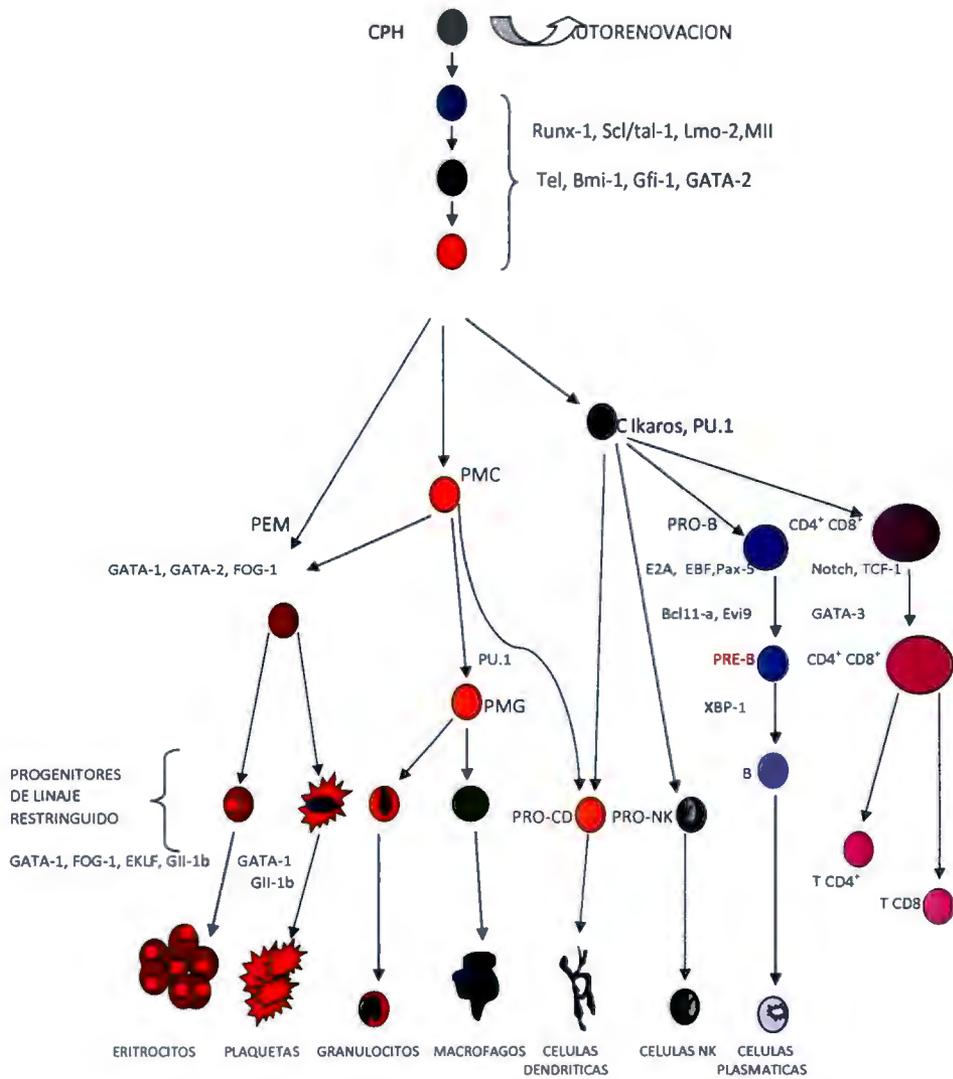


FIGURA 1. Factores de transcripción en el sistema hematopoyético.

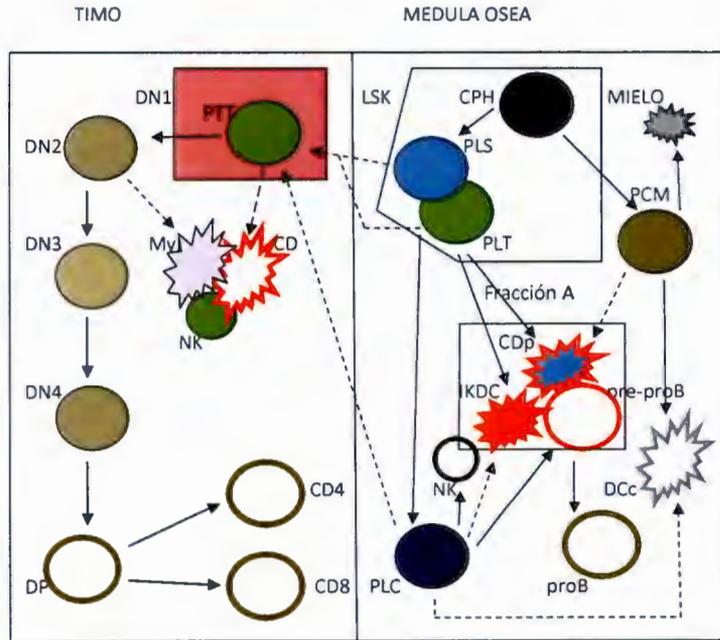


FIGURA 2. Rutas de diferenciación linfóide. Las líneas punteadas finas indican bajo potencial de diferenciación, mientras que las líneas punteadas más gruesas sugieren las rutas probables del inicio de colonización tímica. CPH, célula progenitoras hematopoyética; PLS, progenitor Lselectina+; PLT, progenitor linfóide temprano; PLC, progenitor común linfóide; PMC, progenitor común mielóide; PTT, progenitor tímico temprano; DP, doble positivo; DC, célula dendrítica

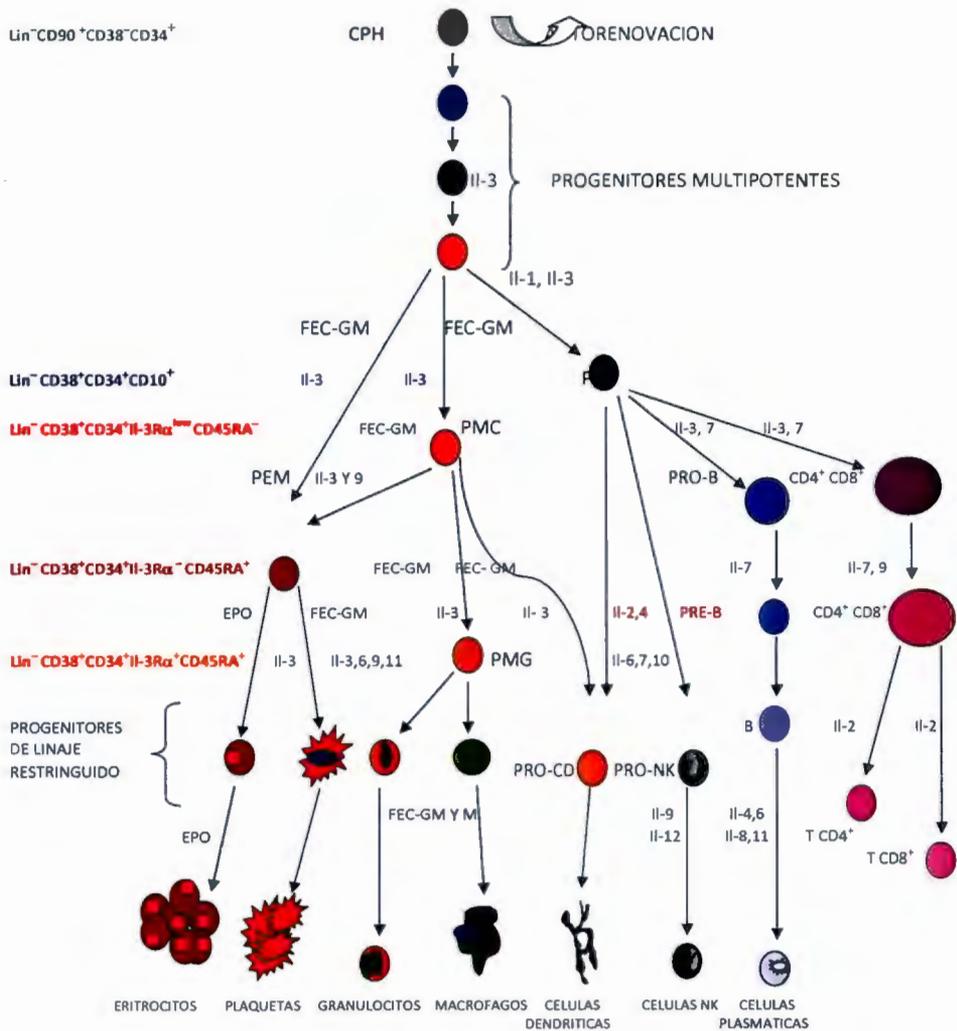


FIGURA 3. MODELO JERÁRQUICO DE HEMATOPOYESIS: Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) ($\text{Lin}^- \text{CD90}^+ \text{CD38}^- \text{CD34}^+$) con capacidad de autorrenovación se encuentran al inicio de la línea jerárquica, lo cual da lugar a los progenitores multipotentes. Los progenitores multipotentes dan lugar a progenitores oligopotentes como el progenitor linfocítico común (PLC) ($\text{Lin}^- \text{CD38}^+ \text{CD34}^+ \text{CD10}^+$), el cual da origen a los linfocitos B maduros, linfocitos T y las células NK. El progenitor mielocítico común (PMC) ($\text{Lin}^- \text{CD38}^+ \text{CD34}^+ \text{Il-3R}\alpha^{\text{low}} \text{CD45RA}^-$), el cual da origen al progenitor de granulocitos macrófagos, el cual se diferenciara en monocitos/macrófagos y granulocitos y progenitores de megacariocitos/eritrocitos, estos a su vez se diferenciarían en megacariocitos/plaquetas y eritrocitos. Se ha propuesto que ambos progenitores dan lugar a las células dendríticas. Se muestra el fenotipo de superficie celular humano. El desarrollo desde progenitores oligopotentes hasta células sanguíneas maduras se lleva a cabo a través de un número de progenitores intermedios. Il (interleucinas), factor estimulador de colonias de granulocitos- macrófagos (FEC-GM).

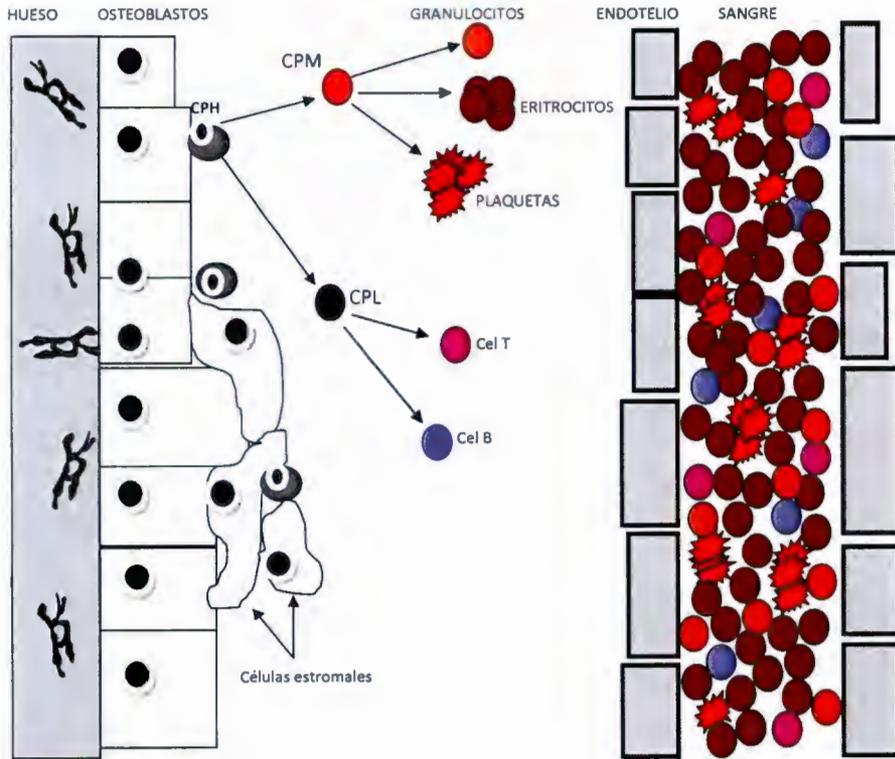


FIGURA 4. Arquitectura del nicho hematopoyético en la médula ósea. Muestra los potenciales componentes del nicho celular en la médula ósea en condiciones normales. Algunas CPHs se localizan cerca del endosteo en donde se hipotetiza que osteoclastos y osteoblastos crean un nicho para su mantenimiento, mientras que otras CPHs son mantenidas por un nicho de una variedad de células perivasculares. Es todavía impreciso cuáles células actúan directamente y cuáles lo hacen indirectamente.