



Encefalopatía Hipóxica Isquémica

Tratamientos coadyuvantes

Nora Balanian

*40 Congreso Argentino de
Neonatología 2019*

Hipotermia

Única estrategia actualmente establecida para el tratamiento de la EN moderada y severa

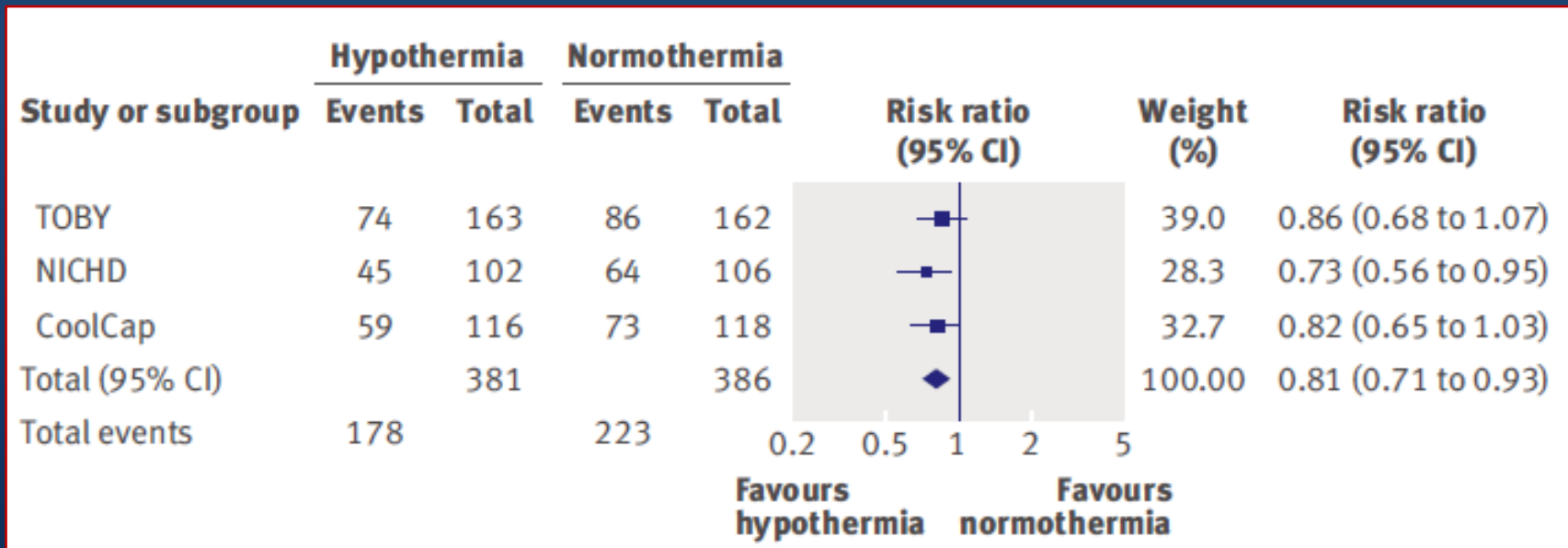
Más efectiva cuando es precoz y en formas menos severas de EHI.

Un 40 % de los pacientes aún fallecen o tienen compromiso neurológico.

Hipotermia

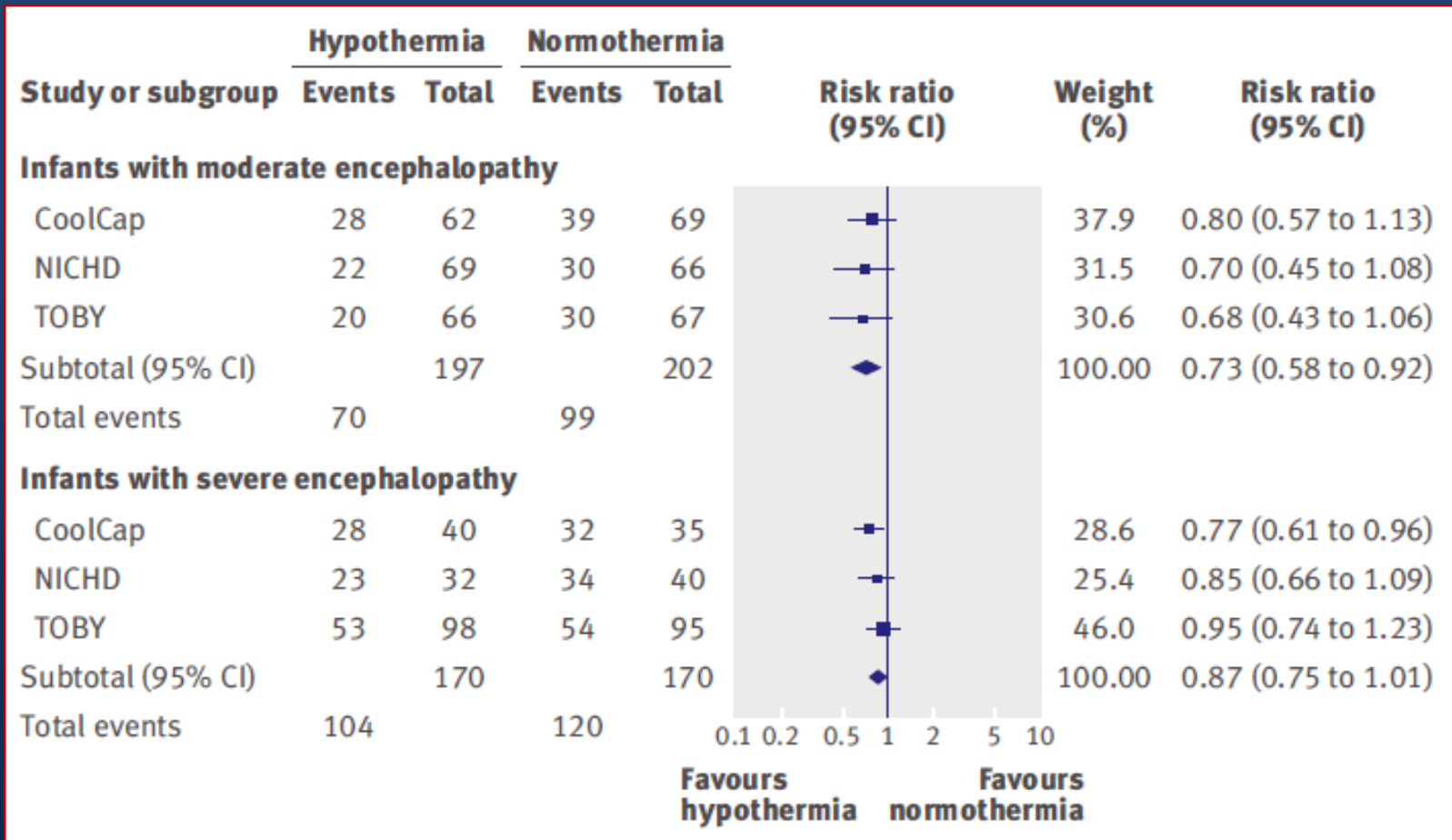
- **4 Metaanálisis : eficaz y seguro** (Edwards et al., Schulzke et al., Shah et al., y Jacobs et al.)
- **Aplicación del método bajo protocolos estrictos de enfriamiento y recalentamiento . Unidad nivel III**
- **Seguimiento a largo plazo (2-4 a)**

Hipotermia: discapacidad o muerte a los 18 meses



Neurological outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: synthesis and meta-analysis of trial data. A David Edwards, et al. BMJ 2010;340:c363

Hipotermia: muerte o discapacidad según severidad de la EHI



Neurological outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: synthesis and meta-analysis of trial data. A David Edwards, et al. BMJ 2010;340:c363

Evolución a los 6 - 7 años

Table 2. Primary Outcome and Its Components in Children 6 to 7 Years of Age.*

	Hypothermia Group (N=163)	Control Group (N=162)	Relative Risk (95% CI)	P Value
Survival with IQ score ≥ 85 among all children who could be tested — no./total no. (%)	75/145 (52)	52/132 (39)	1.31 (1.01–1.71)	0.04
Death — no./total no. (%)	47/163 (29)	49/162 (30)	0.95 (0.68–1.33)	0.81
IQ score ≥ 85 among survivors — no./total no. (%)	75/98 (77)	52/83 (63)	1.22 (1.00–1.49)	0.05

Denis Azzopardi

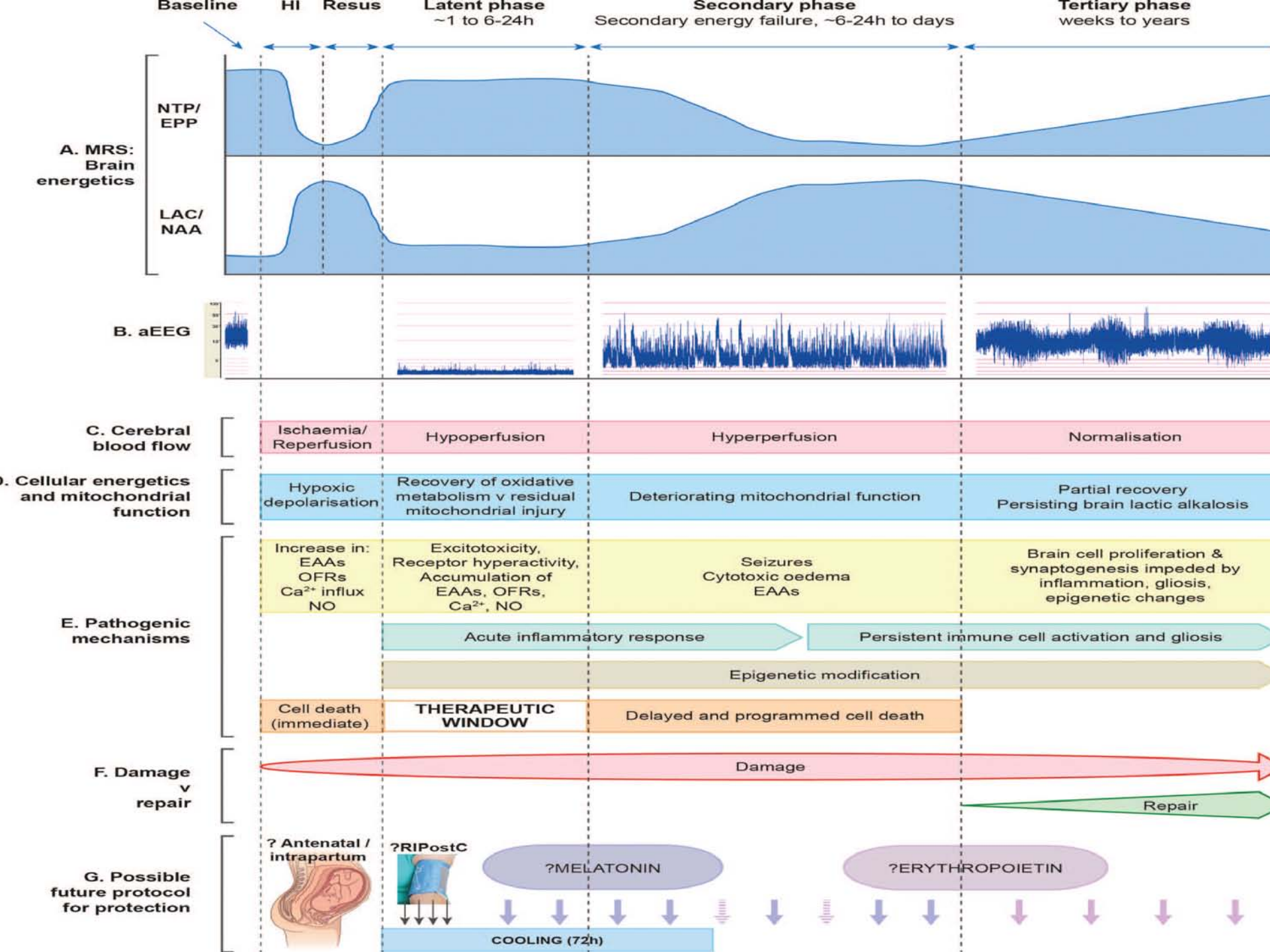
Evolución a los 6 - 7 años

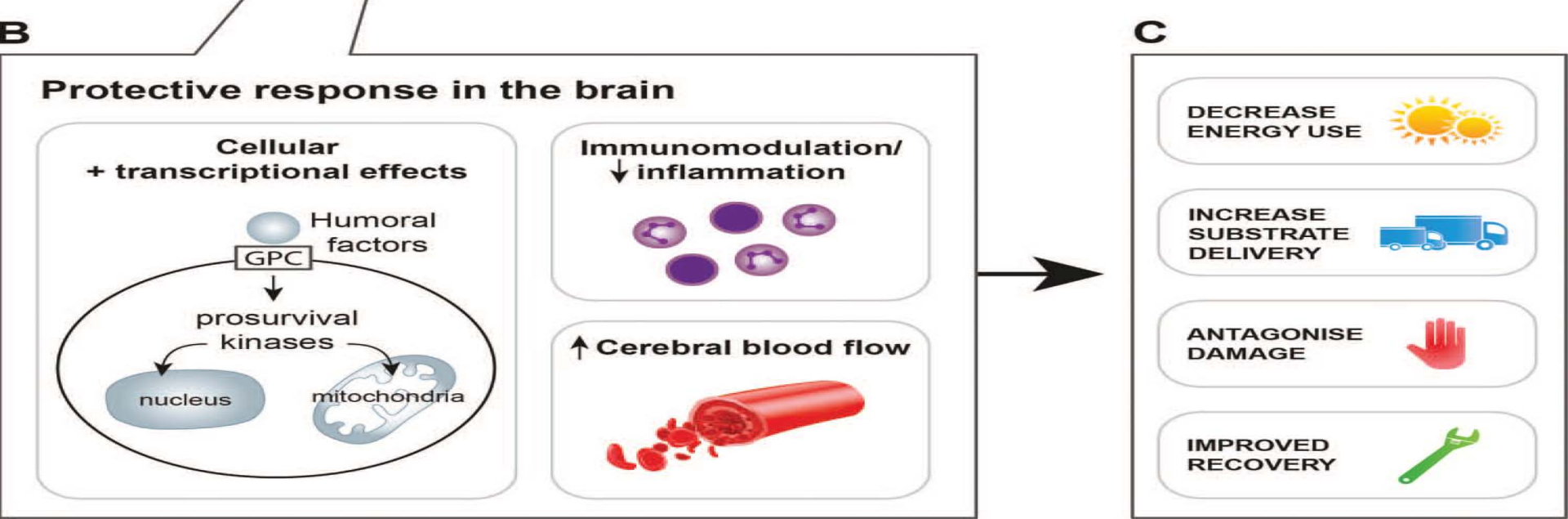
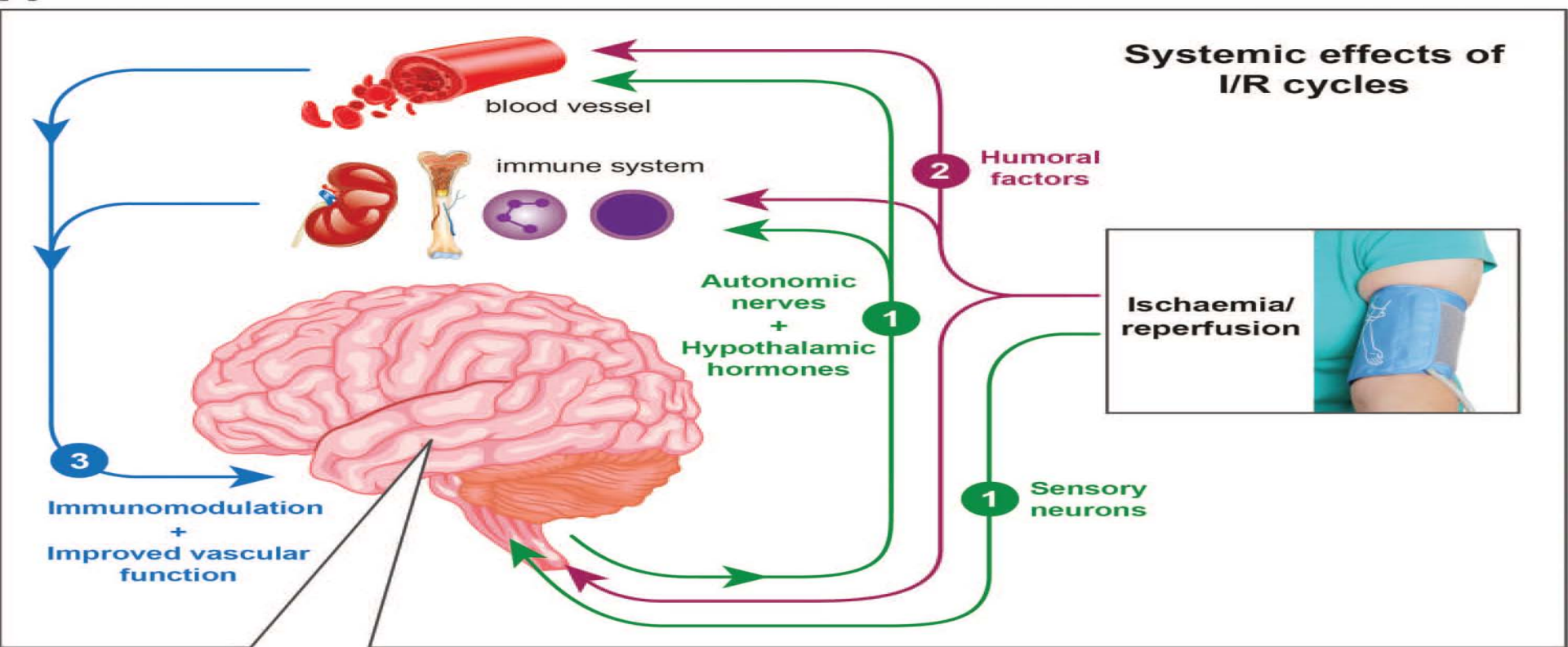
Table 2. Relative Risks of Outcomes with Hypothermia versus Usual Care Among Study Children at 6 to 7 Years of Age.^a

Variable	Hypothermia (N = 97)	Control (N = 93)	Relative Risk (95% CI)	P Value
	<i>no./total no. (%)</i>			
Death or IQ score <70 (primary outcome)	46/97 (47)	58/93 (62)	0.78 (0.61–1.01)	0.06
Among children with moderate hypoxic–ischemic encephalopathy†	22/67 (33)	25/53 (47)	0.70 (0.45–1.09)	0.11
Among children with severe hypoxic–ischemic encephalopathy†	24/30 (80)	33/40 (82)	0.97 (0.77–1.22)	0.79
Death‡	27/97 (28)	41/93 (44)	0.66 (0.45–0.97)	0.04
Death or moderate or severe disability	51/97 (53)	60/93 (65)	0.84 (0.66–1.06)	0.14
Death or severe disability	38/93 (41)	53/89 (60)	0.72 (0.54–0.97)	0.03
Death or IQ score <55	38/93 (41)	53/89 (60)	0.72 (0.54–0.97)	0.03
Death or cerebral palsy	39/96 (41)	56/93 (60)	0.71 (0.54–0.95)	0.02

Neuroprotección

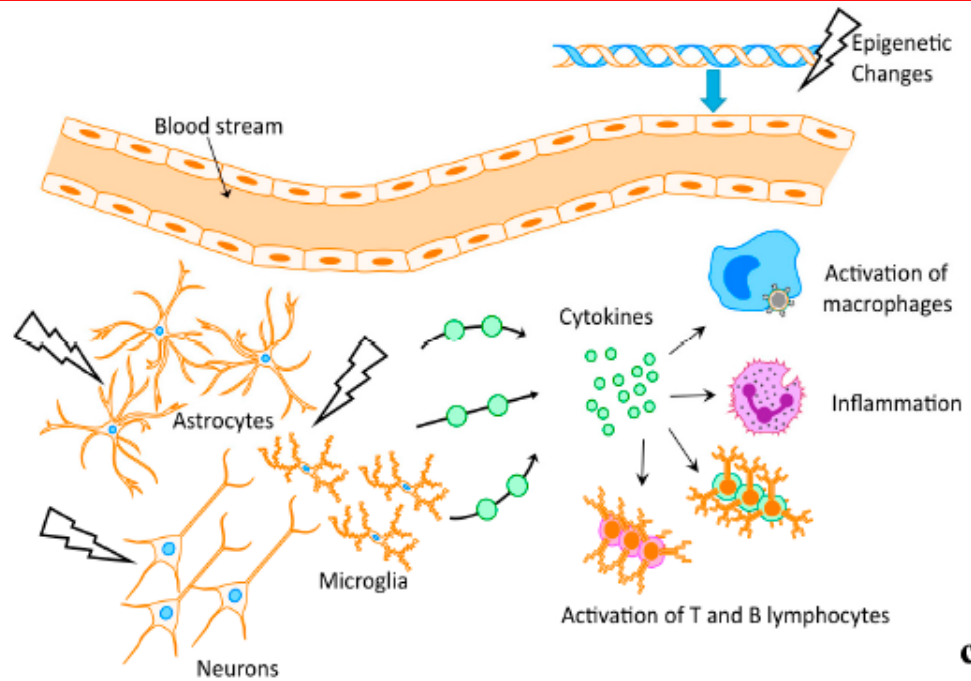
- **Neuroprotección** no es solo prevenir la muerte neuronal aguda sino también evitar que neuronas en riesgo mueran por apoptosis.
- Evitar el daño a células no neuronales como oligodendrocitos y astrocitos que empeoran el pronóstico
- Favorecer el crecimiento celular, la diferenciación y la integración en redes neuronales.





**Phase III
After 48 hours**

↑ Inflammation
↑ Epigenomic Changes
Impairs → ↓ Neurogenesis
↓ Synaptogenesis
↓ Axonal Growth



Necrosis

Apoptosis

Autofagia

Formas de Muerte Celular:

HIPOXIA - ISQUEMIA

Depleción de las reservas de energía

Bloqueantes de los canales de Ca⁺⁺

Disfunción de Na⁺/K⁺

Despolarización de las membranas

Apertura de canales

Inhibidores de la síntesis de ON

Inhibidores de La apoptosis

Activación de ON sintasa, proteasas, nucleasas y endonucleasas

Apoptosis

Acidosis

Liberación de Glutamato

Activación de receptores NMDA y AMPA

Aumento del Ca⁺ intracelular

Producción de ON

Inhibidores del Glutamato
Bloqueantes de los receptores

Fallo de los sistemas buffer de Ca⁺

Scavengers de radicales libres - Antioxidantes

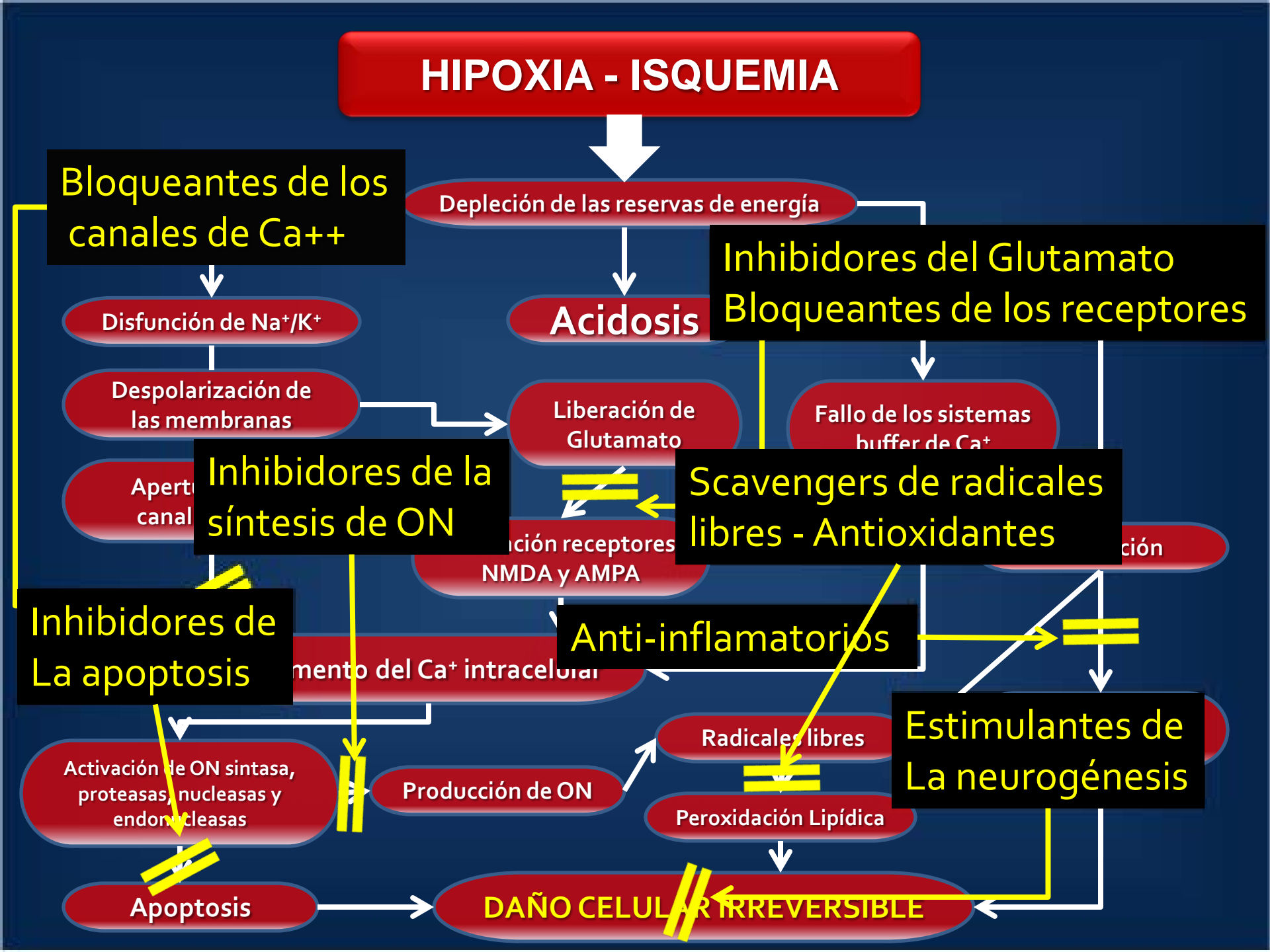
Anti-inflamatorios

Radicales libres

Peroxidación Lipídica

Estimulantes de La neurogénesis

DAÑO CELULAR IRREVERSIBLE



Estrategias Farmacológicas

- Agentes anti-excitatorios : SO_4Mg
Xenon
Anticonvulsivantes
- Agentes anti-oxidantes
- Agentes anti-inflamatorios
- Factores de crecimiento
- Agentes anti-apoptóticos

Estrategias Farmacológicas

- Agentes anti-excitatorios
- Agentes anti-oxidantes : Alopurinol
Melatonina
Inhibidores de ON
- Agentes anti-inflamatorios
- Factores de crecimiento
- Agentes anti-apoptóticos

Estrategias Farmacológicas

- Agentes anti-excitatorios
- Agentes anti-oxidantes
- Agentes anti-inflamatorios : Melatonina
- Factores de crecimiento
- Agentes anti-apoptóticos

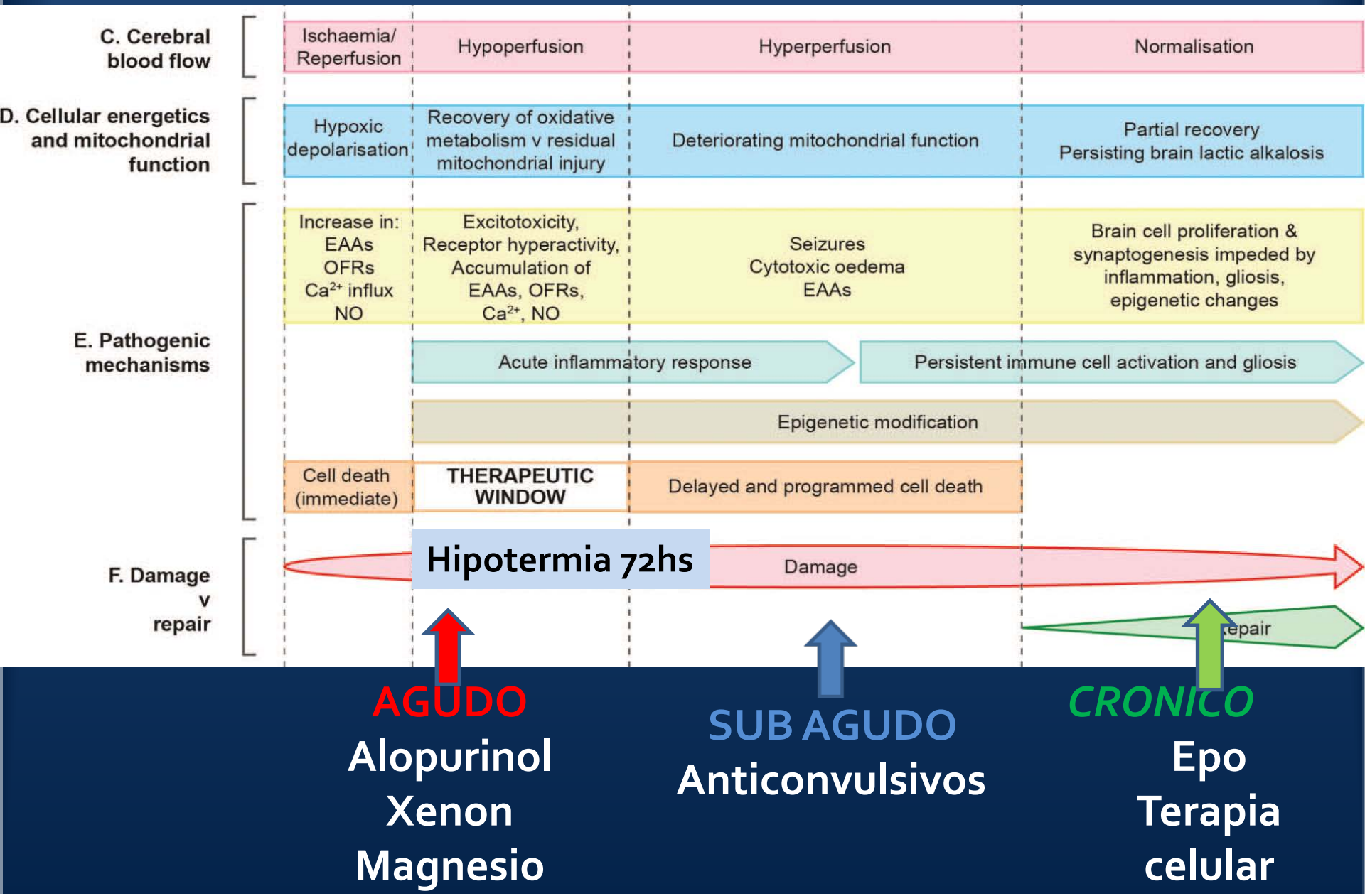
Estrategias Farmacológicas

- Agentes anti-excitatorios
- Agentes anti-oxidantes
- Agentes anti-inflamatorios
- Factores de crecimiento :
 - EPO
 - BDNF
 - VEGF
 - GCSF
 - IGF-1
- Agentes anti-apoptóticos

Estrategias Farmacológicas

- Agentes anti-excitatorios
- Agentes anti-oxidantes
- Agentes anti-inflamatorios
- Factores de crecimiento
- Agentes anti-apoptóticos : **Inhibidores de caspasas**

Intervenciones Potenciales



“Células madre autólogas de cordón umbilical y placenta para la encefalopatía hipóxico isquémica. Estudio de Seguridad y Factibilidad”



Hospital Materno Infantil Ramón Sardá

Hospital de Pediatría Dr. Juan P. Garrahan

Investigadores: C. Solana, S. Kuperman, N. Balanian, C. Gamba, S. Machado, V. Roca

2014-2019

Feasibility of Autologous Cord Blood Cells for Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy

C. Michael Cotten, MD¹, Amy P. Murtha, MD², Ronald N. Goldberg, MD¹, Chad A. Grotegut, MD², P. Brian Smith, MD¹, Ricki F. Goldstein, MD¹, Kimberley A. Fisher, PhD¹, Kathryn E. Gustafson, PhD³, Barbara Waters-Pick, BS, MT(ASCP)⁴, Geeta K. Swamy, MD², Benjamin Rattray, MD¹, Siddhartha Tan, MD⁵, and Joanne Kurtzberg, MD⁶

(J Pediatr 2014;164:973-9).

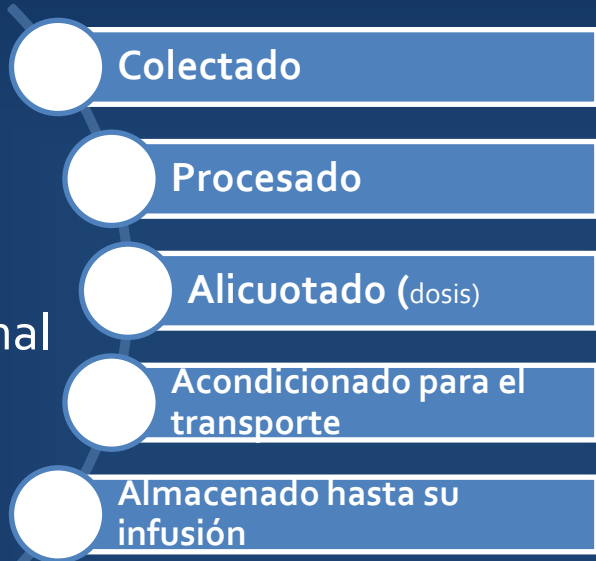
Por qué la necesidad de la infusión de SCU?

- ① La sangre del CU humano (SCUH) es rica en células madre y progenitoras (Broxmeyer 1989,1992, 2001, 2002; Lu 1993; Hao 1995; Alakahata 1982).
- ① La SCU comparada con la médula ósea, contiene células con mayores capacidades proliferativas y de autorenovación (Broxmeyer 2002).
- ① Las infusiones de SCUH producen cantidades diferentes de citocinas y factores tróficos tales como VEGF, factor de crecimiento derivado de los nervios y factor neurotrófico derivado del encéfalo (BDNF) (Chen 2001). También proveen factores de crecimiento angiogénicos VGF y bFGF (Hamano 2000), y mediadores solubles que regulan la respuesta inmunológica (Bernstein 1988). Los efectos beneficiosos resultantes incluyen angiogénesis, neurogénesis, sinaptogénesis, arborización dendrítica y reducción de apoptosis en la zona límite del tejido neuronal dañado (Zhang 2000; Zhang 2001).
- ① Promueve la rápida inducción y emigración de nuevas células desde la fuente principal de células madre neuronales endógenas dentro de la ZSV a la zona dañada del encéfalo.

VALIDACIÓN DE UN PRODUCTO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL COMO TERAPIA CELULAR PARA LA ENCEFALÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA

Objetivo.

Determinar la viabilidad y esterilidad del producto final



Our goal is to determine the viability and sterility of a CB product after being collected, processed, packaged for transportation and stored until used



Kanashiro, MA;
Gamba C; Kuperman S;
Roca V

REUNIÓN CONJUNTA DE SOCIEDADES DE BIOCIENCIAS

Abstract ID: 439 CONICET Banco Público de Sangre de Cordón Umbilical

VALIDATION OF UMBILICAL CORD BLOOD AS A NEW CELL THERAPY PRODUCT FOR NEONATAL HIPOXYC-ISCHEMIC ENCEPHALOPATHY
Kanashiro, MA; Gamba C; Kuperman S; Roca V
Hospital de Pediatría "Prof. Dr. J. R. Garrahan", CONICET, Cuidado Neonatal de Buenos Aires, Argentina

Cord blood (CB) has provided a source of hematopoietic stem and progenitor cell (HSPC) for treating hematologic and non hematologic diseases. However, there is a growing number of studies supporting the use of CB therapies for neurologic conditions including neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (NHE). In these cases, CB is collected, processed, fractionated and stored until the product is infused within the first postnatal days (up to 72hr). According to local regulations (INICOP Res. 119/2012), the facility that prepares cell products shall identify, design and validate the processes that affect the quality of cellular products including that intent for clinical research. Namely, the conditions for collection, transportation, processing and aliquoting of the product, storage and transportation back to the hospital.

Our goal is to determine the viability and contamination of a CB product after being collected, processed, aliquoted, packaged for transportation and stored until used.

Study design
Sample: *10 CBunits
Procedure: According to routine CB Bank SOPs Collection Transportation Processing

New process design
Aliquoting Packaging & Transportation Storage
Single dose syringes 30°C chamber; 2 hr 48 hr 72 hr

Data collection: *Viability *CFU *Sterility *Temperature *Viability *CFU *Sterility

Acceptance criteria: *over 70% viability *sterile

Results
Nucleated Cells concentration Viability
We observed over 70% viability in all CB units tested regardless the initial concentration.

CFU functional assay
Sterility: Post-processing 72 hr
aerobic anaerobic aerobic anaerobic
Bag (100-100) Bag (200-100) Bag (100-100) Bag (100-100)

We found 1 positive culture for anaerobic microorganisms. Streptococcus viridans was detected at 40.0hr. According to previous reports on this system, maximum time to detection for S. viridans is 19.0 a 0.5 hr for 100 CFU/ml and 21.4 a 0.6 hr for 10 CFU/ml. (Kawanishi et al., Transfusion, 2006, 46(12):176-7)

CFU assays were positive for all samples
Temperature range observed during simulation: 4-22°C

We defined conditions for processing, aliquoting, packaging for transportation and storage for a cell therapy product intended for clinical research. Although the source of contamination cannot be defined, the agent found is commonly observed in oral and vaginal flora.

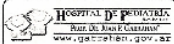
Palatin Rouge - Buenos Aires - Argentina

- **Objetivo del estudio**

Evaluar la seguridad y factibilidad de las infusiones de CA de la sangre del cordón y la placenta, de volumen reducido, en dosis fraccionadas, en Recién nacidos con Encefalopatía Hipóxico Isquémica

- **La recolección, preparación e infusión de células madre autólogas de SCU en recién nacidos ≥ 35 s con EHI moderada o grave dentro de los primeros 6 horas de vida y repitiendo a las 24, 48 y 72 horas post nacimiento.**
- **Diseño. Estudio de Cohorte, limitado a la institución, no aleatorizado.**
- **Tamaño muestral estándar. 12 pac (Fase I)**

Crterios de aptitud



HOSPITAL DE PEDIATRÍA
San Juan, Puerto Rico
www.garrrahan.gov.pr

INFORMACIÓN DE LA SALA DE PARTO
 Este formulario deberá ser completado por la persona que realizó la colecta.

Pegar etiqueta

MADRE

A. ¿Recibió antibióticos durante el parto? NO SI, cause _____ Antibiótico _____

B. ¿Presentó T° > a 38 °C durante el pre-parto? NO FEBRIL: _____ °C

C. ¿Recibió anestesia? NO SI (especificar) _____

TRABAJO DE PARTO Y ALUMBRAMIENTO

D. Tipo de parto Vaginal Cesárea

E. Duración del trabajo de parto _____ horas

F. Tiempo de rotura de membranas _____ horas

G. Complicaciones durante el parto NO SI

Especificar: _____

NACIMIENTO

H. Fecha: ___/___/___

I. Hora: ___:___ (24 hs)

J. Momento de la colecta
 Antes Después del alumbramiento

RECIÉN NACIDO

K. Edad gestacional (semanas)

L. Género Masc. Fem.

M. Apgar _____ al 1er minuto

N. Apgar _____ al 5to minuto

S. Evidencia de sepsis infantil (dentro de las 24 hs de nacido) NO SI

T. Temperatura post-parto del RN Normal (≤ 37.5 °C) Febril: _____ °C

O. Examen físico Normal Anormal

P. Peso del RN _____ gramos

R. Talla del RN _____ centímetros

R. Evidencia de infección placentaria NO SI

Maternidad
Dirección _____

HC RN N°: _____

NOMBRE DEL RN _____

Si la colecta no pudo ser realizada indique la causa: _____

Complicaciones durante la colecta No SI. Especifique: _____

RESPONSABLE DE LA COLECTA: _____

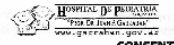
He leído y comprendido las instrucciones de colecta y he seguido las mismas.

La identidad de la donante ha sido verificada según las instrucciones escritas.
Temperatura de almacenamiento de la muestra: 15 a 30 °C

¿Tiene alguna recomendación para mejorar este Programa de colecta?

Banco Público de Referencia Nacional de Sangre de Cordón Umbilical
Htal. de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan

Form/SCU-01/10V02



HOSPITAL DE PEDIATRÍA
San Juan, Puerto Rico
www.garrrahan.gov.pr

Form/SCU-01/04v01

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONANTES
RELACIONADOS DE BANCO DE CÉLULAS PROGENITORAS
HEMATOPOYÉTICAS DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL Y PLACENTA

Fecha: ___/___/___

Yo, _____ DNI _____ he sido informada por _____, con autorización del médico obstetra que me atiende, sobre aspectos relacionados con la donación de sangre de cordón umbilical en el momento del parto.

Me ha informado que el procedimiento consiste en obtener, a través del cordón umbilical, sangre proveniente de la placenta, la que será almacenada en una bolsa de recolección.

Me ha informado que este procedimiento se realizará en la Sala de Partos o Quirófano (en caso de cesárea) del _____, donde me asisto; que será coordinado por profesionales del Banco de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) de Sangre de Cordón Umbilical del Servicio de Hemoterapia del Hospital de Pediatría SAMIC "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

Me ha informado que esta recolección se realizará en condiciones de asepsia, después de haber cortado el cordón umbilical y haber separado al bebé, por lo que no implica algún tipo de riesgo para mí o para mi hijo/a.

Me ha informado que como con cualquier otra donación de sangre u órganos, la que se me propone es voluntaria.

Me ha informado que el objetivo de esta recolección de sangre placentaria es obtener, procesar y criopreservar (conservación de la sangre a temperaturas muy bajas) células llamadas progenitoras que son las que dan origen a las células que circulan por la sangre.

Me ha informado que el procesamiento, almacenamiento y conservación estarán a cargo de profesionales del Servicio de Hemoterapia (Banco de CPH de Sangre de Cordón Umbilical) del Hospital de Pediatría SAMIC "Prof. Dr. Juan P. Garrahan" que cumplirán, en todas las etapas con las normas técnicas y administrativas que regulan estos procedimientos.

Me ha informado que estas células podrán ser trasplantadas a mi hijo/a _____ que padece _____, si los estudios de histocompatibilidad, la viabilidad y el número celular revelaran que ello es posible y lo beneficiare.

Me ha informado que si por algún motivo mi hijo/a no estuviere en condiciones clínicas de recibir esta sangre o se produjere alguna situación que lo contraindicare, se me informará y se me pedirá consentimiento para su posible utilización en otro paciente.

Me ha informado que el procedimiento de recolección de sangre podría no ser llevado a cabo por eventuales urgencias o complicaciones obstétricas o por imposibilidad de comunicación al equipo de recolección.

Me ha informado que si, por algún motivo, a juicio de los profesionales del Banco de CPH de Sangre de Cordón Umbilical, la muestra no estuviere en condiciones para ser administrada a el/la paciente, podría ser utilizada para investigación médica, para lo cual se me dará nueva información y se me requerirá el correspondiente consentimiento.

1002792

Toda la sangre recolectada debe aprobar los controles de calidad del Banco Nacional de sangre del cordón umbilical del Hospital Garrahan

Procesamiento e Infusión

- ◎ Las células nucleadas de la SCU se concentrarán en un volumen de 20,5 ml. Se obtendrá un recuento celular y se extraerá una dosis de 5×10^7 células/kg para su reinfusión directa al bebé donante durante los 3 días después del nacimiento.
- ◎ Las células para las infusiones programadas del estudio serán refrigeradas para las dosis que están preparadas en las primeras 72 horas post nacimiento.
- ◎ Evaluación de Infusión de SCU y eventuales efectos adversos durante la realización de la misma.

- **Capacitación del Equipo de Salud**
- **Preparación del material para la recolección**
- **Identificar al Recién Nacido factible de recolección e infusión de células de CUP**
- ***Antecedentes perinatales, Evento centinela y posterior criterios de inclusión para HIPOTERMIA (Unidad de nivel III, bajo estricto protocolo de enfriamiento***
- ***EHI es una Urgencia Neurológica***

- **Ecografía cerebral dentro de las primeras 24 hs**
- **RMN 7-14 d ----- 4-6 m**
- **EEGa-----EEG**
- **Seguimiento por equipo multidisciplinario**
- **Seguimiento de alto riesgo**
- **Datos estadísticos a los 18- 24 m con evaluación de discapacidades**

tipo de parto	EV Centinela	P. Materna	APGAR	PHCordon/ BB	EB	EN	RCP	Encel	Egreso
Vaginal	Bradicardia Fetal	no	1/3/6	7,13	-20	S Moderada	SI	1 D	Vivo
Cesarea	DPNI	Preeclam	3/5/7	7,13	-19	Moderada	SI	3D	Vivo
Vaginal	Bradicardia	no	2/5/7	6,89	-14,6	Moderada	SI	4 D	vivo
Vaginal	no	no	3/5/6	7,02	-15	Moderada	SI	2 D	vivo
Cesarea	parto prolongado	no	1/5/5	6,8	-23	Severa	SI	4 D	Fallece
Forceps	Exp prolongado	no	6/8	6,99	-13,4	Moderada	SI	3 D	Vivo
Vaginal	Bradicardia Fetal	no	2/5/7	6,97	-13,8	Moderada	SI	2 D	Vivo
Vaginal	Procidencia Cordon	No	1/4/6/7	6,96	-18	Severa	SI	2D	Fallece
Vaginal	No	Lues	0/4/7	6,95	-16	Moderada	SI	2 D	Internado
Cesarea	LAM	Lues	2/0/2	6,98	-23	severa	SI	3D	Fallece
Cesarea	DPNI	No	3/5/7	6,94	-11,5	Moderada	SI	3 D	Vivo
Vaginal	Exp prolongado	No	3/6/8	6,80	-23	Moderada	SI	4D	Vivo



Día 1



Día 3



Día 8



Día 11

CONCLUSIONES

Las terapias coadyuvantes son promisorias.

Su uso combinado puede ser necesario para aumentar la ventana de oportunidad, reducir la injuria y favorecer la reparación celular.

Gracias !

