

¿Renacimiento de la vía intraósea para el trasplante hematopoyético?

A revival of intraosseous route for hematopoietic transplantation?

Dra. Elvira Dorticós-Balea, Dr. Ainel Anoceto-Martínez, Dr. Wilfredo Roque-García, Dra. Sandra Sarduy-Sáez, Dr. Juan Carlos Jaime-Fagundo, Dr.Cs. Prof. Porfirio Hernández-Ramírez

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

La vía intraósea directa para el trasplante de células hematopoyéticas se utilizó por primera vez por *Josefson* en 1934, como un método para tratar la anemia perniciosa. Tiempo después comenzó a emplearse habitualmente la vía intravenosa, basado en el conocimiento de que las células hematopoyéticas, una vez inyectadas en la circulación sistémica, migran hacia la médula ósea. El trasplante de células de la sangre de cordón umbilical ha tenido un desarrollo importante en los últimos años. Entre sus inconvenientes está que, generalmente, el número de células que se obtienen son insuficientes, sobre todo para su aplicación en pacientes adultos. Por ello es importante aumentar el número de células que se inyectan y llegan a la médula. Una de las formas de hacerlo es colocándolas directamente en el espacio medular. Estudios preclínicos han mostrado la efectividad de este proceder. Los estudios clínicos son escasos y con resultados contradictorios, por lo que es necesario continuar desarrollando este método que parece ser útil en determinadas situaciones.

Palabras clave: trasplante hematopoyético, células hematopoyéticas, vía intraósea directa, vía intravenosa, células de la sangre del cordón umbilical.

ABSTRACT

The direct intraosseous access for hematopoietic cell transplantation was first used by *Josefson* in 1934, as a method to treat pernicious anemia. Later, the use of intravenous access became normal, based on knowledge of hematopoietic cells migration to the bone marrow once injected into the systemic circulation. The transplantation of blood cells from the umbilical cord has

developed significantly in recent years. Among its disadvantages is that, generally, the number of cells obtained are insufficient, especially for using in adult patients. Therefore, it is important to increase the number of cells injected and to reach the core. One way to do this is by placing them directly into the marrow space. Preclinical studies have shown the effectiveness of this approach. Clinical studies are scarce and with conflicting results, so it is necessary to continue developing this method which appears to be useful in certain situations.

Keywords: hematopoietic transplantation, hematopoietic cells, direct intraosseous access, intravenous access, blood cells from the umbilical cord.

ANTECEDENTES

La vía intraósea directa (VIOD) se utilizó por primera vez por *Josefson* en 1934, como un método para tratar la anemia perniciosa, al inyectar una preparación de hígado en la médula ósea esternal.¹

En los años 40 del siglo pasado se usó esta vía también para suministrar líquidos y transfusiones, así como algunas drogas, en enfermos que requerían procedimientos de resucitación, especialmente niños y adultos en estado crítico, ya que permitía un acceso expedito y una rápida absorción, por lo que se empleó en cientos de pacientes.^{2,3}

En los primeros tiempos de los trasplantes de células hematopoyéticas (TCH) no solo se destinó la VIOD para este proceder, pues en humanos se hicieron intentos eventuales para administrar las células por vía oral, intramuscular o intraarterial.^{4,5} En el año 1939 se registró la primera información sobre el uso de la médula ósea (MO) por vía intravenosa (IV), cuando se hizo un TCH alogénico a una paciente con aplasia medular que recibió 18 mL de MO de un hermano.⁶

Una secuencia similar ocurrió en Cuba. En las primeras tentativas de trasplante, en la década iniciada en el año 1950 se trataron 20 pacientes que padecían en su mayoría aplasia medular y en el 90 % la administración de la MO se hizo por VIOD, inyectando un volumen aproximado de 50 a 60 mL de material al nivel de la cresta o de la espina ilíaca antero-superior.⁷

A partir de los primeros trasplantes exitosos, la vía IV fue la que se empleó habitualmente, basado en el conocimiento de que las células hematopoyéticas, una vez inyectadas en la circulación sistémica, migran hacia la MO.⁸ Esta hipótesis contribuyó en gran medida a la expansión del trasplante alogénico, como un proceder que incluye la ablación de la MO y del sistema inmune del enfermo seguida de la infusión IV de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) obtenidas de la MO o de la sangre periférica (SP), que son capaces de repoblar la MO y reconstituir la SP.^{9,10} Trabajos preclínicos demostraron que esta hipótesis no era tan absoluta y que solo el 10-20 % de las células inyectadas van hacia la MO y las otras son atrapadas en órganos no hematopoyéticos.¹¹

Por otra parte, el TCH alogénico tiene la limitante de que solo el 30 % de los pacientes tiene un donante familiar compatible. Esto trae como consecuencia el desarrollo de fuentes alternativas, como son los donantes no familiares de MO y SP y de sangre del cordón umbilical.^{12,13}

TRASPLANTE DE CÉLULAS OBTENIDAS DE LA SANGRE DEL CORDÓN UMBILICAL (CCU)

Desde que en 1988 se realizó el primer trasplante exitoso de CCU, su empleo ha ido en aumento, y hasta el momento se han efectuado más de 10 000 trasplantes de este tipo con más de 300 000 unidades disponibles en más de 40 bancos de CCU.¹⁴

Su uso se incrementó sobre todo en pacientes pediátricos, debido a que el número de células es insuficiente para los adultos, pues en ellos puede haber demora o fallo del implante de neutrófilos y plaquetas en el 10 al 20 % de los enfermos.¹⁵

ESTUDIOS PRECLÍNICOS

Para superar la limitación de la dosis de células, se estudiaron diferentes estrategias como:

1. La expansión *ex vivo* por 3 métodos: en cultivo conteniendo citoquinas, el cocultivo con células estromales del microambiente y la perfusión continua con birreactores, proceder mejor que los cultivos estáticos.¹⁶
2. La administración de múltiples unidades de CCU.¹⁷
3. El tratamiento del injerto con agentes que potencialmente aumenten la migración de las células hacia el nicho medular, como la hormona paratiroidea y la modulación del sistema integrado por el factor 1 derivado del estroma (SDF 1, del inglés *stromal derived factor*) y su receptor específico (CXCR4/SDF1).¹⁸

Además, por VIOD se pueden administrar otras células que mejoran la hematopoyesis y el nicho medular. Esta última teoría se basó en los estudios realizados en la década de los 70 del pasado siglo por *Friedenstein*, sobre la potencialidad de las células mesenquimales (CM) para mantener la hematopoyesis después de ser trasplantadas localmente, no así cuando se administran por vía IV.¹⁹

A partir del año 2000, numerosos grupos comunicaron experiencias con el uso de CM y llegaron a 2 conclusiones importantes: las CM son muy grandes y por lo tanto, son atrapadas en los pulmones cuando se inyectan por vía IV; además, expresan propiedades de adhesión muy fuertes. Por otra parte, las suspensiones de CM son extremadamente inestables y tienden a aglutinarse en pocos minutos. Diferentes células, como los osteoblastos, otras células estromales, incluyendo las sinusoidales y endoteliales, son responsables de soportar la hematopoyesis y controlar el número de CPH, por lo que el cotrasplante de todas estas poblaciones celulares es especialmente atractivo en casos en que el número de células a trasplantar sea escaso, como ocurre generalmente con CCU y cuando existen alteraciones del estroma medular. Este razonamiento proporcionó las bases para el trasplante de MO haploidéntico de un familiar, combinado con una inyección intraósea de células mesenquimales del mismo donante, preexpandidas en cultivo.²⁰

El trasplante de CCU representa un tratamiento efectivo para enfermedades hematológicas y más recientemente se está empleando en medicina regenerativa.²¹ Por lo tanto, el aumento del uso de la sangre del cordón umbilical es uno de los factores que influye de forma importante en el resurgimiento del uso de la vía intraósea.

Pero no solo se han realizado estudios comparativos con las CCU. También se ha confrontado la vía IV con la VIOD en modelos murinos y se determinó que la capacidad de "siembra" es menor cuando las células se inyectan por vía IV. La eficiencia de "siembra" se define como la proporción de células hematopoyéticas trasplantadas que llegan a la MO después de la inyección. La vía IV tiene una baja eficiencia de "siembra" y se demostró que la eficiencia de "siembra" de las células

de la SP es del 5,3 %; las procedentes del cordón umbilical 4,4 %; y de la MO 0,8 %.²² Esta eficiencia se mejora cuando se aplica la VIOD y se puede producir un incremento de hasta 15 veces su potencialidad en comparación con la vía IV, por lo que esta técnica se ha convertido en un modelo estándar para el estudio de la biología de las células progenitoras en el laboratorio y ha servido de base para las investigaciones clínicas.²³

Otra ventaja probable que brinda esta vía es la disminución de la frecuencia de la enfermedad injerto contra hospedero (EICH). En modelos murinos de trasplante alogénico efectuado por VIOD se advirtió una disminución de la EICH.²⁴ Cuando se estudiaron los efectos de la infusión de linfocitos del donante (ILD) en ratones previamente trasplantados con CPH, se comprobó que los animales que recibieron la ILD por vía IV murieron rápidamente por EICH, mientras que los que recibieron la ILD por VIOD no murieron, independientemente de si habían sido previamente trasplantados por vía IV o VIOD. Se han planteado varias razones para este hecho, pero parece que la disminución de la frecuencia de EICH se debe a múltiples interacciones, aún poco conocidas, que pueden estar relacionadas con modificaciones en la regulación de las células T, de la producción de citoquinas y de la interacción con las células estromales.²⁵

Recientemente se ha planteado una novedosa estrategia para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas las autoinmunes, que consiste en una recolección de las células de la MO por un método de perfusión (MP) y la infusión por VIOD. Este método minimiza la contaminación de las células medulares con las células T de la SP y así no se desarrolla EICH. Como al coleccionar las células de la MO también se obtiene CM, la inyección por VIOD de ambos tipos celulares facilita el implante de las células del donante. Con la VIOD no se produce fallo del injerto, aunque se disminuya la dosis de radiación, y es una terapéutica que puede aplicarse también en medicina regenerativa.²⁶

APLICACIONES CLÍNICAS

Las aplicaciones clínicas de la VIOD en el trasplante alogénico humano se han llevado a cabo en pequeños grupos de pacientes y en pocos centros, con gran variabilidad en cuanto a la fuente de células administradas, el volumen y número de estas, así como las medidas de sostén.

Con algunas variaciones, la técnica utilizada es similar en los estudios comunicados. Las células se inyectan en las crestas ilíacas posteriores mediante trócares de biopsia de médula ósea. Este proceder se realiza bajo condiciones de esterilidad en la habitación del paciente, que puede recibir o no tratamiento antibiótico profiláctico con vancomicina o cloxacilina previo a la inyección, o no recibir este, y sedación con morfina, anestesia local o ambos procedimientos. Otros grupos utilizaron propofol.

En un estudio en el que se utilizaron células obtenidas de la MO de donantes emparentados, estas se resuspendieron en dextrán antes de la infusión, para obtener un volumen total de 1 a 1,5 L. Se insertaron en las crestas ilíacas 2 trócares de biopsia de MO de aproximadamente 1,8 x 50 mm, y se inyectaron las células resuspendidas con jeringuillas de 50 mL, ejerciendo una ligera presión cuando era necesario. A pesar del volumen administrado, el procedimiento fue bien tolerado y no tuvieron complicaciones. Los pacientes recibieron 5 mg de morfina antes de la infusión.²⁷

La técnica varió cuando se emplearon CCU. En ese caso, el paciente se colocó en posición lateral, no recibió antibiótico profiláctico y la inyección se realizó bajo sedación con propofol. Después del procesamiento habitual de la unidad obtenida de un solo cordón, las células se resuspendieron en 20 mL de solución salina más dextrán y albúmina, y se repartieron en 4 jeringuillas de 5 mL. Inicialmente se hizo una inyección en un sitio único de cada hueso ilíaco y después se procedió a inyectar en un sola cresta a una distancia de 2 a 3 cm del sitio previo.²⁸ (Fig.).



Tomado de Frassoni et al.²⁸

Fig. Sitios en las crestas ilíacas para la administración intraósea directa. Las flechas indican los sitios de inyección.

Cuando se inyectaron células obtenidas de 2 cordones, se aleatorizaron las unidades para suministrarlas por VIOD o IV. Las unidades se procesaron en la forma habitual, pero las que iban a ser administradas por VOID se resuspendieron en pequeños volúmenes de 40 mL para inyectarlas en el mismo volumen en ambas crestas ilíacas posteriores, de forma que un paciente recibió 2 unidades por VIOD y otros, una por VIOD y la otra por vía IV.

Previamente se aplicó vancomicina y sedación con lorazepám 1 a 2 mg y sulfato de morfina 15 mg. Las CCU se inyectaron en un sitio único de cada hemipelvis en un tiempo aproximado de 10 minutos.

Lo más importante es que a pesar de las variaciones de las técnicas empleadas, el proceder fue seguro, mostró que puede efectuarse en la cama del paciente con sedación ligera y anestesia local y que a pesar de las complicaciones potenciales como las infecciones, el embolismo aéreo o graso por la inyección de las células, en el pequeño número de pacientes informados no existieron ninguno de estos inconvenientes.²⁹

OTROS ESTUDIOS CLÍNICOS

Hägglund y otros estudiaron 37 pacientes adultos con enfermedades hematológicas que recibieron MO compatible o hemicompatibles después de regímenes de acondicionamiento mieloablativos y se aleatorizaron para recibir el trasplante por vía IV o VIOD. Para asegurarse de que el proceder fuera seguro, los primeros 9 pacientes recibieron la mitad del volumen por VIOD y la otra mitad por vía IV. La recuperación hematológica fue similar en ambos grupos, al igual que la frecuencia de EICH y de complicaciones. Un aspecto interesante de este trabajo es que los investigadores intentaron determinar el grado de asentamiento de las células mediante el marcaje de estas con Tecnecio -99, pero la gammagrafía no mostró diferencias en la distribución entre los pacientes que recibieron la infusión por las diferentes vías. Sin embargo, estos datos deben observarse con cautela, ya que solo se estudiaron 5 casos con esta técnica radioisotópica.²⁷

En el año 2008, Frassoni y otros comunicaron resultados muy alentadores de un estudio fase I/II realizado en 32 pacientes con leucemia aguda en diferentes estadios, que recibieron un trasplante de CCU procedente de un solo cordón, después de un régimen mieloablativo. La supervivencia fue del

50 % cuando se usó la VIOD, comparada con el 39 % que se obtuvo cuando se empleó la vía IV. La cantidad de células trasplantadas fue relativamente baja: $2,6 \times 10^7/\text{kg}$ (rango $1,4$ a $4,2 \times 10^7/\text{kg}$). El tiempo de recuperación de neutrófilos fue de 23 días y el de plaquetas de 36 días, este último mucho más corto que con la vía IV que fue de 3 meses. Estos resultados sugieren que la VIOD puede vencer el problema de la demora en la recuperación de plaquetas. Otro aspecto importante fue la disminución de la EICH grado III y IV que no ocurrió cuando se usó la VIOD, mientras que con la vía IV fue del 11 %.²⁸

Por otro lado, el grupo de Minnesota realizó un estudio con 10 pacientes a los que inyectaron CCU procedentes de 2 cordones. Todos los pacientes recibieron el mismo régimen mieloablativo y de inmunosupresión, seguido por el doble trasplante de CCU. Las unidades de CCU fueron aleatorizadas para administrarse por vía IV o VIOD, estratificadas según la mayor o menor dosis de células. En esta investigación no existió diferencia en cuanto al tiempo de recuperación de neutrófilos, ni en el grado de quimerismo. Además, la frecuencia y severidad de la EICH fue similar a los controles históricos que recibieron todas las células por IV. Este estudio no mostró ninguna ventaja sobre la vía convencional, contrariamente a lo encontrado por *Frassoni*.²⁸

La investigación con CCU se ha continuado debido a que la VIOD puede mejorar el pronóstico del trasplante al proporcionar un mejor implante hematopoyético y menor número de EICH. *Okada* y otros, trataron 10 pacientes con CCU sin lavar para evitar la pérdida celular. Las células se descongelaron inmediatamente antes de su uso y se inyectaron en 4 sitios de los huesos ilíacos (2 en cada hemipelvis). No existieron complicaciones relacionadas con el proceder. Nueve pacientes mostraron implantación y circulación periférica de células del donante. El tiempo medio de recuperación de neutrófilos fue 17 días y la normalización de las plaquetas se alcanzó en 8. Tres de los pacientes que tuvieron recuperación desarrollaron EICH grado II-III, y 5 de los 10 enfermos fallecieron de toxicidad relacionada con el tratamiento. La probabilidad de supervivencia al año fue del 46,7 %.³⁰ Se llegó a la conclusión que la administración por VIOD de CCU sin lavar empleando un régimen de acondicionamiento no mieloablativo, es segura, bien tolerada y facilita el incremento de las células implantadas.

Recientemente se presentaron datos no comunicados con anterioridad sobre el accidente nuclear de Chernóbil ocurrido el 26 de abril de 1986. A causa de esta explosión se hizo el diagnóstico de síndrome agudo de radiación en 134 individuos que estuvieron expuestos a elevados niveles de radiación. Nueve pacientes hasta ahora no informados en la literatura científica, recibieron trasplante alogénico por VIOD en hospitales de Kiev. Las células del donante fueron parcial o totalmente compatibles para el sistema mayor de histocompatibilidad (HLA) en los loci A y B. Los aspirados se inyectaron en las crestas ilíacas de los pacientes. El tiempo de recuperación de leucocitos y plaquetas fue menor cuando se compararon con un grupo de enfermos con el síndrome de radiación que no se trasplantaron, pero que recibieron factores de crecimiento como parte del tratamiento. Es de destacar que la inyección celular por VIOD demostró ser un procedimiento efectivo para tratar víctimas de accidentes nucleares³¹ y pudiera ser útil en afecciones de la MO secundarias a otras causas de irradiación.

Sin embargo, para poder llegar a conclusiones sobre la efectividad de la VIOD es necesario ampliar los estudios con un número mayor de pacientes, uniformar el número de células, al igual que los regímenes de acondicionamiento; aunque las investigaciones realizadas hasta ahora muestran que es una vía segura, que puede tener gran utilidad fundamentalmente en situaciones en que el número de células es bajo, como es el caso del trasplante de CCU, así como en pacientes en que es necesario asegurar una dosis adecuada de células y cotrasplantar otras células que favorecen el implante, como son las CM. Las características de la VIOD pudieran tener aplicación en la medicina regenerativa y servir de apoyo al desarrollo de la terapia celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Josefson A. A new method of treatment-intraossal injections. *Acta Med Scand.* 1934;81:550-64.
 2. Tocantins L, O'Neill J, Jones H. Infusions of blood and other fluids via the bone marrow: application in pediatrics. *J Am Med Assoc.* 1941;117(15):1229-34.
doi:10.1001/jama.1941.02820410007002.
 3. Smith R, Davis N, Bouamra O, Lecky F. The utilisation of intraosseous infusion in the resuscitation of paediatric major trauma patients. *Injury.* 2005 Sep;36(9):1034-8.
 4. Migdalska KZ. Special section transplantation of bone marrow. *Blood.* 1958 March;13(3):266-301.
 5. Morrison M, Samwick AA. Intramedullary (sternal) trans- versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic fusion of human bone marrow. *J Am Med Assoc.* 1940;115(20):1708-11.
doi:10.1001/jama.1940.02810460040010 .
 6. Osgood EE, Riddle MC, Mathews TJ. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous bone marrow: case report. *Ann Intern Med.* 1939 Aug;13(2):357-67.
 7. Dorticós-Balea E, González-Otero A, Hernández-Ramírez P. El trasplante de médula ósea en Cuba. Aportes del Instituto de Hematología e Inmunología. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* [serie en Internet]. 1997;12(2). Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol12_2_96/hih08296.htm
 8. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957 Sep 12;257(11):491-6.
 9. Sullivan KM, Parkman R, Walters MC. Bone marrow transplantation for non-malignant disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2000:319-38.
 10. Karanes C, Nelson GO, Chitphakdithai P, Agura E, Ballen KK, Bolan CD, et al. Twenty years of unrelated donor hematopoietic cell transplantation for adult recipients facilitated by the National Marrow Donor Program. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008; Sep; 14(9 Suppl):8-15.
 11. Cui J, Wahl RL, Shen T, Fisher SJ, Recker E, Ginsburg D, et al. Bone marrow cell trafficking following intravenous administration. *Br J Haematol.* 1999 Dec;107(4):895-902.
 12. Jaime-Fagundo JC, Dorticós-Balea E, Pavón- Morán V, Cortina-Rosales L. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: tipos, fuentes e indicaciones. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* [serie en Internet]. 2004 Ago [citado 2011 Dic 05] ; 20(2). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200002&lng=es
 13. Rocha V, Locatelli F. Searching for alternative hematopoietic stem cell donors for pediatric patients. *Bone Marrow Transplant.* 2008 Jan; 41(2):207-14.
 14. Shi-Xia X, Xian-Hua T, Xiang-Feng T. Unrelated umbilical cord blood transplantation and unrelated bone marrow transplantation in children with hematological disease: a meta-analysis. *Pediatr Transplant.* 2009 May; 13(3):278-84.
-

15. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, Stevens C, Kurtzberg J, Scaradavou A, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. *Lancet*. 2007 Jun 9; 369(9577):1947-54.
16. Koestenbauer S, Zisch A, Dohr G, Zech NH. Protocols for hematopoietic stem cell expansion from umbilical cord blood. *Cell Transplant*. 2009; 18(10):1059-68.
17. Majhail NS, Brunstein CG, Wagner JE. Double umbilical cord blood transplantation. *Curr Opin Immunol*. 2006 Oct; 18(5):571-5.
18. Stanevsky A, Shimoni A, Yerushalmi R, Nagler A. Cord blood stem cells for hematopoietic transplantation. *Stem Cell Rev Rep*. 2011 Jun; 7(2):425-33. DOI: 10.1007/s12015-010-9183-9.
19. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring microenvironment of hematopoietic tissues cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation*. 1974 Apr; 17(4):331-40.
20. Resnick I, Stepensky P, Elkin G, Barkatz C, Gurevich O, Prigozhina T, et al. MSC for the improvement of hematopoietic engraftment Bone Marrow Transplant. 2010 Mar; 45(3):605-6.
21. Liaoa Y, Geyera MB, Yanga AJ, Cairoa MS. Cord blood transplantation and stem cell regenerative potential. *Exp Hematol*. 2011 Apr; 39(4):393-412.
22. Van Hennik PB, de Koning AE, Ploemacher RE. Seeding efficiency of primitive human hematopoietic cells in nonobese diabetic/severe combined immune deficiency mice: implications for stem cell frequency assessment. *Blood*. 1999 Nov; 94(9):3055-61.
23. Castello S, Podesta M, Menditto VG, Ibatici A, Pitto A, Figari O, et al. Intra-bone marrow injection of bone marrow and cord blood cells: an alternative way of transplantation associated with a higher seeding efficiency. *Exp Hematol*. 2004 Aug; 32(8):782-7.
24. Nakamura K, Inaba M, Sugiura K, Yoshimura T, Kwon AH, Kamiyama Y, et al. Enhancement of allogeneic hematopoietic stem cell engraftment and prevention of GVHD by intra-bone marrow bone marrow transplantation plus donor lymphocyte infusion. *Stem Cells*. 2004; 22(2):125-34.
25. Ramírez PA, Wagner JE, Brunstein CG. Going straight to the point: intra-BM injection of hematopoietic progenitors Bone Marrow Transplant. 2010 Jul; 45(7):1127-33.
26. Ikehara S. A novel BMT technique for treatment of various currently intractable diseases. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2011 Sep; 24(3):477-83.
27. Hägglund H, Ringden O, Agren B, Wennberg L, Remberger M, Rundquist L, et al. Intraosseous compared to intravenous infusion of allogeneic bone marrow. *Bone Marrow Transplant*. 1998 Feb; 21(4):331-5.
28. Frassoni F, Gualandi F, Podesta M, Raiola AM, Ibatici A, Piaggio G, et al. Direct intrabone transplant of unrelated cordblood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol*. 2008 Sep; 9(9):831-9.

29. Brunstein CG, Barrer JN, Weisdorf DJ, Defor TE, McKenna D, Chong SY, et al. Intra-BM injection to enhance engraftment after myeloablative umbilical cord blood transplantation with two partially HLA-matched units. *Bone Marrow Transplant.* 2009 Jun; 43(12):935-40.
30. Okada M, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Ikegame K, Kato R, et al. Intra-bone marrow transplantation of unwashed cord blood using reduced-intensity conditioning treatment: A phase I study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011 Aug 23. [Epub ahead of print] PMID:21867667.
31. Klymenko SV, Belyi DA, Ross JR, Owzar K, Jiang C, Li Z, et al. Hematopoietic cell infusion for the treatment of nuclear disaster victims: New data from the Chernobyl accident. *Int J Radiat Biol.* 2011 Aug; 87(8):846-50.

Recibido: 15 de junio del 2012.
Aprobado: 15 de julio del 2012.

Dra. *Elvira Dorticós-Balea*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268, Fax (537) 644 2334. Correo electrónico: rchematologia@infomed.sld.cu
Website: <http://www.sld.cu/sitios/ih>