

INCIDENCIA DE ALTERACIONES CITOGENÉTICAS EN CÉLULAS STEM MESENCQUIMALES EXPANDIDAS PARA USO CLÍNICO

S. Muntión^{1,2}, F.M. Sánchez-Guijo^{1,2}, S. Carrancio^{1,2}, O. López^{1,2}, E. Villarón^{1,2}, M. Díez-Campelo¹, J.F. Blanco^{2,4}, J.F. San Miguel^{1,3}, M^a. C. del Cañizo^{1,3}

¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ²Centro en red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León and Red Nacional de Terapia Celular (Tercel, ISCIII). ³Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC (Universidad de Salamanca-CSIC) Campus Miguel de Unamuno. Salamanca. ⁴Servicio de Traumatología. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos y objetivos: En los últimos años hemos asistido a un creciente interés en la utilización de las Células Stem Mesenquimales como herramienta terapéutica en ensayos clínicos para numerosas enfermedades. Para su uso clínico es necesario demostrar la estabilidad genética de estas células antes de su uso clínico. En estudios previos, hemos optimizado la obtención de metafases en cultivos *in vitro* de CSM.

Pacientes y métodos: En este trabajo analizamos la estabilidad génica, mediante citogenética convencional, de 61 expansiones de CSM de donantes sanos llevadas a cabo bajo condiciones GMP para su uso clínico. En todos los casos se llevó a cabo el control de calidad mediante estudios de inmunofenotipo, diferenciación *in vitro* a tres líneas celulares: osteocitos, adipocitos y condrocitos así como la realización del cariotipo. Para la obtención de metafases, cuando las CSM presentaban un 60% de confluencia en cultivo se añadió Colcemid a concentración de 0.05 µg/mL durante 15h. Transcurrido este tiempo se eliminó el medio de cultivo, se incubaron los portales en solución de lisis 0.075 mM (KCl) a 37°C durante 30 minutos y se fijaron con solución Carnoy (metanol: ácido acético (3;1, v/v). Finalmente se dejaron envejecer los portales a 60°C toda la noche. Las metafases se analizaron con bandas G teñidas con tinte Wright. En una de las expansiones fue necesario realizar estudios de Hibridación *in situ* Fluorescente (FISH) para la sonda centromérica del cromosoma 10.

Resultados: En la mayoría de los casos (59 de 61 casos) se obtuvo número suficiente de metafases para realizar el cariotipo. Solo uno de los casos presentó un cariotipo anormal (47, XY+10), que se confirmó mediante HISE. En este caso las CSM fueron excluidas para uso clínico. En todos los casos, las CSM presentaban un perfil inmunofenotípico propio de célula stem mesenquimal (positivo para CD73, CD90, CD105, CD106 y CD166, y negativo para CD14, CD19, CD34, CD45 y HLA-DR). Además, la diferenciación hacia osteocitos, adipocitos y chondrocitos también se confirmó en todos los casos.

Conclusión: La tasa de alteraciones citogenéticas en CSM para uso clínico es baja (1,6%), pero la realización del cariotipo en todos los casos es clave para excluir para uso clínico aquellos casos con alteraciones.

Financiación: Ministerio de Sanidad (TRA-175), (TRA-138), EC-10-188), MCINN(PLE 2009-0094)