

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CÉLULAS STEM MESENQUIMALES DERIVADAS DE HUESO TRABECULAR PROCEDENTE DE CABEZAS FEMORALES

O. López Villar^a, F.M. Sánchez-Guijo^a, J.F. Blanco^b, I.F. Graciani^a, J. Canchado^a, N. López-Holgado^a, E.M. Villaron^a, M. Alberca^a, L.I. Sánchez-Abarca^a, S. Tabera^a, B. Blanco^a, J.A. Pérez-Simón^a, J.F. San Miguel^a y M.C. del Cañizo^a

^aServicio de Hematología y ^bTraumatología. Hospital Universitario de Salamanca.

Introducción: Las células stem mesenquimales (CSM) son de intenso interés científico por su capacidad de multipotencialidad y expansión. Sin embargo, al ser la médula ósea (MO) la fuente principal de dichas células, su obtención en donantes sanos voluntarios supone un procedimiento invasivo. En el presente estudio nos planteamos la posibilidad de obtener CSM a partir de las cabezas femorales que se desechan en las intervenciones quirúrgicas de artroplastia de cadera, empleando un método de extracción novedoso, que evita la digestión enzimática del hueso trabecular, y comparando dicha fuente con la MO para comprobar si las CSM obtenidas de hueso trabecular (CSMt) presentan las mismas características inmunofenotípicas y funcionales.

Material y métodos: Se obtuvieron las cabezas femorales a partir de 10 pacientes sometidos a artroplastia de cadera como tratamiento de fractura subcapital (n = 6), osteoartritis (n = 3) o fractura subcapital (n = 1). La edad media de los donantes fue 75 años (rango 57-87); la relación hombre/mujer fue 3/7. Las cabezas fueron se fragmentaron utilizando un molinillo estéril (Aesculap GB40), realizándose posterior filtrado. Las células mononucleadas se expandieron en cultivo en un medio que contenía DMEM con 10% de suero bovino fetal (FCS) en una atmósfera a 37°C con 5% de CO₂, durante al menos 4 pases. Tras la expansión, se realizó un marcaje con inmunofluorescencia directa empleando anticuerpos monoclonales conjugados frente a los antígenos CD90, CD166, CD105, CD45, CD34, HLA-DR, CD56 y CD62L, con posterior adquisición de la muestra en un citómetro de flujo FACScalibur (Becton Dickinson). Además, para comprobar la capacidad de diferenciación de las CSMt, éstas se cultivaron en un medio de diferenciación osteogénico (DMEM con 10% de FCS, 10 nM de dexametasona, 10 mM de beta-glicerofosfato y 0,05 mM de L-ascorbato) y adipogénico (IMDM con 10% de FCS, 10% suero de caballo y 5x10⁻⁷ M de hidrocortisona) durante 4 semanas adicionales. Transcurrido este tiempo, se realizó tinción citoquímica con fosfatasa alcalina y rojo al aceite para comprobar la diferenciación a osteocito y adipocito, respectivamente.

Resultados: En todos los casos las CSMt fueron cultivadas y expandidas mostrando un ritmo y patrón de crecimiento similar al de las CSM obtenidas de MO. Así mismo presentaban el mismo patrón inmunofenotípico que las CSM de MO (CD90+, CD166+, CD105+, CD45-, CD34-, HLA-DR-, CD56-, CD62L-) y fueron capaces de diferenciarse normalmente tanto a adipocito como a osteoblasto.

Conclusión: Las CSMt obtenidas de cabezas femorales sustituidas durante la artroplastia de cadera son morfológica e inmunofenotípicamente idénticas a aquellas obtenidas de la médula ósea, mostrando el mismo perfil de diferenciación.

Relevancia: Demostramos, utilizando un nuevo método de aislamiento, que las cabezas femorales constituyen una fuente sencilla y accesible de CSM.