

OBTENCIÓN Y CULTIVO DE CÉLULAS ADULTAS MESENQUIMALES PROCEDENTES DE MÉDULA ÓSEA PARA CO-TRANSPLANTE EN HEMATOLOGÍA

P. Catalina^a, J.L. Cortés^a, F. Cobo^a, M. Jurado^b, G. Salas^b, C. Contreras^b, I. Gutiérrez^a y A. Concha^a

^aBanco de Líneas Celulares de Andalucía. ^bServicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: Debido a su capacidad inmunomoduladora, las células troncales adultas (estromales o mesenquimales) se están utilizando en hematología para co-transplante junto con células de estirpe hematopoyético, para tratar la enfermedad injerto contra huésped. Este estudio analiza la metodología empleada para obtener células mesenquimales procedentes de médula ósea procesadas en el Banco de Líneas Celulares de Andalucía, comparando diferentes protocolos con el objetivo de optimizar esta tecnología para una futura aplicabilidad en pacientes hematológicos.

Material y métodos: Se procesaron 28 muestras de médula ósea en un período de 10 meses. Las muestras provenían del S. de Hematología del HU Virgen de las Nieves, tras consentimiento informado de todos los donantes, cuya cantidad osciló entre 3-20 ml. Se cultivaron en 2 tipos de medio: DMEM bajo en glucosa y Mesencult. La obtención de células mononucleadas se realizó utilizando Percoll, Ficoll o Factor de Lisis Eritrocitaria. El cultivo se realizó durante aproximadamente 7 días para inducir la adhesión y proliferación de las células mesenquimales. Se realizó cambio de medio cada 3-4 días hasta alcanzar un 60-80% de confluencia. Se realizó cariotipo convencional y citogenética molecular mediante hibridación genómica comparada (HGC). El control microbiológico se realizó por cultivo convencional y PCR.

Resultados: De las 28 muestras, en 13 (46,4%) se utilizó Percoll, en 8 (28,6%) se utilizó el Ficoll y en 7 (25,0%) se utilizó una solución de lisis eritrocitaria. En 5 muestras (17,9%), se utilizó DMEM bajo en glucosa. En las restantes se utilizó Mesencult. A 10 muestras (35,7%) se añadió suplemento estimulador y a otras 6 (21,4%) se añadió LIF. Se utilizó EGF en 2 (7,1%) y EGF + #b-FGF en 5 (17,9%). El #b-FGF se utilizó solo en 1 muestra (3,6%). Se realizó cariotipado a 11 muestras, obteniéndose en todas un cariotipo normal. Mediante HGC se estudió de forma aleatoria el cariotipo en 3 muestras control, siendo también normal. Se realizó análisis microbiológico a todas las muestras siendo en todos los casos negativo.

Conclusiones: 1. La cantidad de médula ósea es un factor limitante para la obtención en cantidad suficiente de células estromales para trasplante. Solamente 7 muestras se cultivaron más de 40 días pero sin obtener una cantidad suficiente de células como para realizar trasplante. Ello es probablemente debido a la escasa cantidad de población celular en la muestra suministrada. 2. No hay diferencias en cuanto a la obtención de las células mononucleares con los diferentes métodos. 3. El medio de cultivo con mayor rentabilidad para la obtención y expansión de células adultas fue el Mesencult. 4. La utilización de EGF o FGF promueven mayor crecimiento de este tipo de células, aunque su empleo conjunto no mejora el rendimiento. 5. Recomendamos la realización de controles microbiológicos y citogenéticos para demostrar bioseguridad del producto.