



XX CONGRESO NACIONAL

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE TÉCNICOS DE LABORATORIO
Boletín de participación científica comunicación libre numero:

Titulo: **PAPEL DE LOS CULTIVOS HEMATOPOYETICOS DE PRECURSORES MEGACARIOCÍTICOS EN LA PREVALIDACIÓN DE ESTRATEGIAS IN VITRO PARA PREDECIR TOXICIDAD AGUDA EN HUMANOS (2007)**

Trabajo de **Hematopoyesis**

Autor/a/s: **Laura Cerrato, Juan A. Bueren y Beatriz Albella**

Centro de trabajo: **CIEMAT**

Dirección del primer firmante: **Avda Complutense, nº 22, 28040 Madrid**

Comunicación: **PANEL**

En los últimos años, la Unión Europea ha patrocinado y sigue patrocinando proyectos de investigación encaminados al desarrollo de cultivos *in vitro* que ayuden a predecir toxicidad aguda en humanos. El cultivo *in vitro* de células hematopoyéticas no es una técnica nueva, pero su aplicación en los estudios de toxicidad y, especialmente, en la predicción de toxicidad aguda en humanos, si es relativamente novedoso.

El sistema hematopoyético se encuentra en constante proliferación, es un tejido especialmente sensible a todos aquellos compuestos químicos que afecten al ciclo celular y, a menudo, es un tejido limitante en el desarrollo de nuevos compuestos antitumorales. Por ello, es uno de los sistemas a estudiar incluido en un proyecto europeo que se inició en enero de 2005 (A-Cute-Tox, LSHB-CT-2004-512051). Las técnicas utilizadas son el cultivo clonogénico *in vitro* de precursores hematopoyéticos humanos en matriz semisólida. Los resultados que se presentan corresponden a los estudios realizados con el cultivo de precursores megacariocíticos (CFU-Meg) en medio semisólido de colágeno y en presencia de Trombopoyetina como factor de crecimiento hematopoyético específico de esta línea hematopoyética. La fuente de células humanas ha sido la sangre de cordón umbilical. Tras una centrifugación de la misma en gradiente de Ficoll se obtuvieron las células mononucleadas que se mantuvieron congeladas hasta su utilización.

Una vez que las colonias megacariocíticas han crecido (10-12 días de incubación) es necesario realizar una tinción inmunohistoquímica del cultivo con un anticuerpo que reconoce la glicoproteína GPIIb/IIIa, característica de la membrana de los megacariocitos y que permite su identificación inequívoca frente a otras colonias hematopoyéticas.

Se ha estudiado la linealidad del cultivo con concentraciones crecientes de células. Los resultados han mostrado que la concentración adecuada para utilizar es 70.000 células/ml. Dicha concentración será la utilizada para el chequeo de los productos incluidos en el estudio.

Por otra parte, dado que el DMSO es el solvente utilizado en muchos de los xenobióticos incluidos en el proyecto, se ha comprobado el efecto de distintas concentraciones del mismo en el cultivo de CFU-Meg. Los resultados han mostrado que la concentración final del solvente que no afecta al crecimiento de las colonias megacariocíticas es el 0,1%, dicha concentración será la utilizada en los estudios posteriores.

Como valores de referencia para iniciar los estudios de sensibilidad de las CFU-Meg a los distintos xenobióticos se han tomado los valores en plasma humano y los utilizados en cultivos clonogénicos de otras líneas hematopoyéticas. Se mostraran las curvas de supervivencia, así como los valores de IC50, IC70 e IC90 obtenidos con algunos de los compuestos ya estudiados, discutiendo su relación con los niveles plasmáticos en sangre.