



4. AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES A PARTIR DE GRASA DE PACIENTES FALLECIDOS

Julia Martínez Solé¹, Aitana Braza Boils², Lara Milian Medina³, María Oliver³, Claudia Giraldo³, Carlos Fernández Sellers⁴, Rafael Sánchez⁵, Pilar Molina Aguilar⁴, Manolo Mata³ y Esther Zorio Grima⁶

¹Servicio de Cardiología, CAFAMUSME, Grupo Acreditado de Cardiopatías Familiares, Muerte Súbita y Mecanismos de Enfermedad. Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, España, ²CAFAMUSME, Grupo acreditado de Cardiopatías Familiares, Muerte Súbita y Mecanismos de Enfermedad. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe IIS La Fe y CIBERCV, Valencia, España, ³Departamento de Patología. Universitat de València, Valencia, España, ⁴Servicio de Patología, CAFAMUSME, Grupo acreditado de Cardiopatías Familiares, Muerte Súbita y Mecanismos de Enfermedad. Instituto de Medicina Legal, Valencia, España, ⁵CAFAMUSME, Grupo Acreditado de Cardiopatías Familiares, Muerte Súbita y Mecanismos de Enfermedad. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe IIS La Fe, Valencia, España y ⁶Unidad de Cardiopatías Familiares, Servicio de Cardiología, CAFAMUSME, Grupo acreditado de Cardiopatías Familiares, Muerte Súbita y Mecanismos de Enfermedad, CIBERCV. Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, España.

Resumen

Introducción y objetivos: La capacidad de generar modelos mediante ingeniería tisular para el estudio de diferentes patologías incluyendo cáncer, enfermedades neurológicas o cardiomiopatías, está en boga. Se propone un sistema de aislamiento y cultivo de células madre mesenquimales (MSC) de tejido adiposo (ADSC) obtenidas a partir de biopsias de pacientes fallecidos potencialmente útiles para generar organoides, lo que nos podría ayudar a una mejor comprensión de los mecanismos fisiopatológicos de las cardiopatías.

Métodos: Se utilizaron 4 muestras de grasa subcutánea abdominal de 4 autopsias forenses. Se aislaron las células mesenquimales mediante digestión con collagenasa (0,0125 g/10 ml) y cultivo en medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de SFB (suero fetal bovino), antibióticos y antifúngicos. Se seleccionaron las células adherentes y se caracterizaron por citometría de flujo. Las células se cultivaron con medio de inducción condrogénico, osteogénico y de cardiomiocitos y se caracterizaron atendiendo a los siguientes marcadores: colágeno tipo II y agregano para condrocitos, colágeno tipo I, fosfatasa alcalina, y osteocalcina para osteocitos y desmina para miocitos. La expresión de dichos marcadores se evaluó por inmunofluorescencia y real time RT-PCR.

Resultados: En el momento de recogida de las muestras el intervalo *postmortem* fue 20-30 horas. Las células aisladas fueron positivas para CD29 (82,32 ± 16,39%), CD105 (94,38 ± 2,09%), CD44 (99,93 ± 0,04%) y CD73 (89,33 ± 6,66%) y negativas para CD31 (0,65 ± 0,16%) y CD45 (3,76 ± 4,39%). Encontramos gran variabilidad para STRO1 (51,84 ± 67,94%) y CD146 (16,04 ± 24,06%). Las células aisladas de los pacientes mostraron positividad para todos los marcadores específicos de linaje analizados en relación al medio de inducción empleado.

Conclusiones: Es técnicamente factible obtener progenitores adipogénicos de fallecidos con menos de 60 horas de intervalo *postmortem*. Dichas células muestran un perfil de expresión de marcadores compatible con MSC. Además, han demostrado su potencial para diferenciarse a estirpes condrogénicas, osteogénicas y miogénicas. Estos resultados avalan el uso de dichas células para generar modelos de estudio de diferentes patologías en pacientes fallecidos.

ISCIII FEDER «Unión Europea, Una forma de hacer Europa», PI18/01582, PI21/01282. INNEST/2021/55.
Fundació La Marató TV3 736/C/2020.