

# DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE CONSUMO DE OXIGENO FUERA DE LINEA DE CELULAS HEMATOPOYETICAS DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL HUMANO

Alexandra Valderrama Bonilla, Hector Mayani Viveros\* y Octavio Tonatihu Ramirez Reivich  
 Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México,  
 Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, 62250. Morelos. MEXICO  
 Fax: (52) (73) 13-88-11, e-mail: tonatihu@ibt.unam.mx  
 \*Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI  
**Palabras clave:** VCO, células hematopoyéticas, cordón umbilical

**Introducción.** Las células hematopoyéticas (CH) de sangre de cordón umbilical humano (SCUH) se han convertido en una alternativa potencial para la reconstrucción hematopoyética en pacientes inmunosuprimidos y con enfermedades congénitas hematopoyéticas. La cantidad de CH presentes en un cordón umbilical es muy reducida por lo que es necesario expandirlas *in vitro* para obtener células suficientes para ser usadas en trasplantes de individuos adultos. Un parámetro importante para el diseño y operación de bioreactores para la expansión de CH de SCUH es la velocidad de consumo de  $O_2$  (VCO). Este parámetro permite inferir el estado de proliferación, de diferenciación y de actividad fisiológica de los cultivos, y es necesario para diseñar la óptima transferencia de  $O_2$  al cultivo. En este trabajo se diseñó un respirómetro y se empleó para determinar la VCO en cultivos de CH de SCUH.

**Metodología.** Se realizaron múltiples cultivos paralelos en cajas Petri a condiciones estáticas, usando un inóculo de  $2 \times 10^5$  células mononucleares (MN)/ml. Las células se sembraron en medio IMDM suplementado con SFB y citocinas recombinantes. Para las determinaciones de VCO, se diseñó un respirómetro cuyo principio de operación se basa en el método dinámico. Se detectaron los progenitores hematopoyéticos (ProH) mediante ensayos clonogénicos en metilcelulosa (MC) (2).

**Resultados y Discusión.** En la Fig 1 se muestran los perfiles típicos de la respuesta del respirómetro. De la pendiente de la gráfica de  $O_2$  disuelto (OD) contra tiempo fue posible calcular la VCO usando los datos obtenidos entre 0.5 h a 1.0 h. Estas determinaciones se realizaron en distintos tiempos de cultivo para las diferentes muestras de SCUH cultivadas.

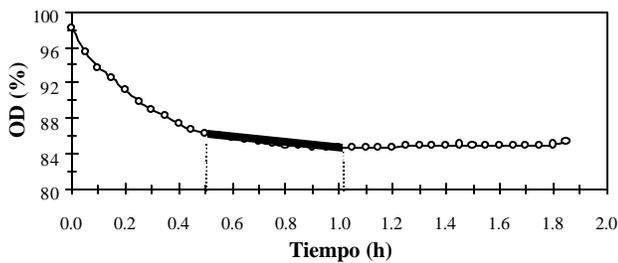


Figura 1. Respuesta típica del OD contra tiempo medida en el respirómetro diseñado

A partir de estos datos, se calculó la velocidad específica de consumo de  $O_2$  ( $qO_2$ ) para las muestras. El intervalo de los  $qO_2$  calculados durante la fase exponencial fue de  $1.46 \times 10^{-11}$  a  $2.96 \times 10^{-10}$   $mmolesO_2/célh$ . Además, se observó una relación directa entre la concentración de unidades formadoras de colonias (UFC) de ProH totales y los registros de VCO (Fig 2), lo cual es similar a lo reportado por otros autores (1, 2). Es importante destacar, que la máxima VCO detectada no corresponde a la máxima concentración de células MN (Fig 3), lo cual confirma la relación entre ProH totales y  $qO_2$ . Esta observación puede ser una herramienta potencial para detectar ProH en pocas horas en contraste con 14 días necesarios mediante la técnica convencional en MC.

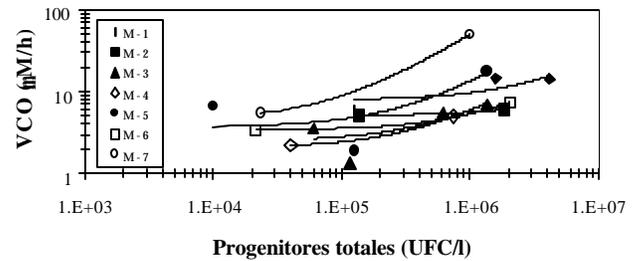


Figura 2. Variación de la VCO en función de la concentración de UFC de ProH totales. M-1 a M-7: diferentes muestras

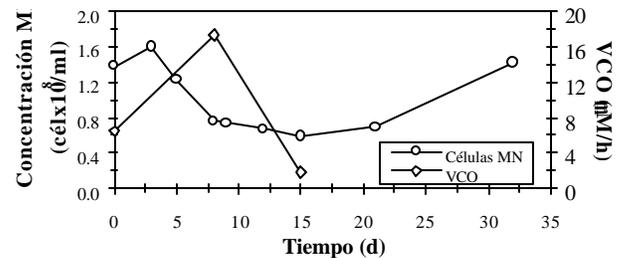


Figura 3. Variación típica de la concentración de células MN y la VCO con respecto al tiempo

**Conclusiones.** El respirómetro diseñado permitió cuantificar fuera de línea el  $qO_2$  de CH de SCUH. Se demostró que la VCO puede ser una variable de gran potencial, ya que indica estados de diferenciación de las CH de SCUH, los cuales son un parámetro de importancia clínica.

**Agradecimientos.** Donación SCUH Hospital Regional General No. 1 (IMSS). Financiamiento por DGAPA(IN-119398)

## Bibliografía

- Collins, P, Nielsen, L, Patel, S, Papoutsakis E & Miller, W. (1998). Characterization of hematopoietic cell expansion, oxygen uptake, and glycolysis in controlled, stirred-tank bioreactor system. *Biotechnol. Prog.* 14:466-472.
- De León, A. (1999). Expansión de células hematopoyéticas humanas suspendidas en reactores instrumentados: utilidad de la velocidad de consumo de oxígeno y potencial redox. Tesis de Doctorado en Biotecnología. Instituto de Biotecnología. UNAM. México