



EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE LOS FIBROBLASTOS EN PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVACIÓN DE CORTO PLAZO.

M. Lobo, I. Garzón, I.A. Rodríguez, A. Fernández Montoya, M.C. Sánchez Quevedo, A. Campos. Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento de Histología, Universidad de Granada. Centro Regional de Transfusión Sanguínea y Banco de Tejidos de Granada. Cátedra B de Histología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

El interés clínico que suscita la construcción de tejidos artificiales mediante ingeniería tisular para su aplicación terapéutica, exige el mantenimiento en los Bancos de Tejidos de células de los pacientes durante cortos periodos de tiempo antes de su utilización en la elaboración de constructos. Evaluar la viabilidad de células criopreservadas en un corto periodo de tiempo constituye un requisito imprescindible para la utilización clínica de estas células.

Objetivo. El objetivo de este trabajo es evaluar la viabilidad de fibroblastos humanos obtenidos a partir de biopsias y el efecto de una criopreservación de corta duración sobre la misma.

Metodología. En primer lugar, en este trabajo se establecieron cultivos primarios de fibroblastos humanos a partir de muestras de biopsia de mucosa oral extraídas bajo anestesia local utilizando colagenasa I durante 6 h a 37°C. Posteriormente, se recogieron las células mediante centrifugación, cultivándose en medio DMEM con suero bovino fetal y antibióticos. Una vez subconfluentes, los cultivos de fibroblastos se subcultivaron hasta el 5º pase utilizando tripsina-EDTA a 37°C durante 10 minutos. En cada subcultivo se utilizaron células mantenidas en medio de cultivo (fibroblastos en fresco) y células congeladas en nitrógeno líquido durante 30 días utilizando DMSO al 10% como agente crioprotector. En cada caso, se analizó la viabilidad celular mediante tinción con azul tripán.

Resultados. Nuestros resultados revelan que, en el periodo de criopreservación estudiado, los indicadores de viabilidad no se alteran de modo estadísticamente significativo en relación con los valores control en los cinco primeros subcultivos, si bien en los dos últimos subcultivos los valores de viabilidad son más altos en los fibroblastos criopreservados (viabilidad media 79,95% en fibroblastos no criopreservados y 83,25% en fibroblastos criopreservados).

Conclusiones. Nuestros resultados ponen de relieve que, aunque tanto los fibroblastos no criopreservados como los criopreservados muestran un grado de viabilidad semejante y pueden por tanto utilizarse para la elaboración de constructos, los valores obtenidos en este estudio nos permiten recomendar la utilización de fibroblastos no criopreservados en el caso de que se utilicen los tres primeros subcultivos, y de fibroblastos criopreservados cuando se utilicen los subcultivos cuarto y quinto.

Financiado por CM 2005/011.