



O-242 - GENERACIÓN DE CERDOS QUIMÉRICOS COMO DONANTES PARA XENOTRASPLANTE: ABORDAJE PERCUTÁNEO ECOGUIADO PARA LA INYECCIÓN IN UTERO DE CÉLULAS STEM HUMANAS DE CORDÓN UMBILICAL

P. Ramírez Romero¹, L. Martínez Alarcón¹, J.M. Abellana Cuadrado², M.J. Majado Martínez¹, J.D. Berna Serna¹, M.R. González¹, J.M. Herrero Medrano², A. Ríos Zambudio¹, A. Muñoz Luna², G. Ramis Vidal² y P. Parrilla Paricio¹

¹Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia. ²Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria, Murcia.

Resumen

Objetivos: Para la obtención de potenciales donantes quiméricos para xenotrasplante, se ha desarrollado una técnica de abordaje percutáneo ecoguiado con inyección de células STEM en fetos de cerdo de hasta 50 días de gestación.

Métodos: Se han llevado a cabo 15 inyecciones *in utero* de cerdas en primer tercio de gestación. Tres de los experimentos se desarrollaron para poner a punto la técnica ecoguiada de inyección en la cavidad peritoneal de los fetos, usando contraste sonográfico (SonoVue®). Uno de ellos realizado a los 75 días de gestación (para determinar los abordajes más eficaces), y los otros dos a los 45 días de gestación, edad a la que se realiza el implante de células. En los restantes 12 experimentos, las células fueron inyectadas en lechones de cerdas con 45-51 días de gestación. Las células pluripotenciales humanas utilizadas fueron de tres tipos: STEM CD34+ seleccionadas y mononucleares totales, ambas de sangre de cordón umbilical y mesenquimales procedentes de médula ósea. En todos los casos se inyectaron las células resuspendidas en 0,5 ml de PBS + 0,5 ml de SonoVue®. Con las cerdas en decúbito supino, se localizaron 2 o 4 fetos de cada camada, alternando los cuernos uterinos y se procedió a la inyección transcutánea ecoguiada de las células en cavidad peritoneal de los lechones. Para ello, una vez localizados los fetos, se insertó una aguja de 25 G a través de una pequeña incisión realizada en la piel hasta llegar al peritoneo del feto, donde se depositó la solución de células y contraste. Las inyecciones se consideraron: a) positivas: cuando se constató la distribución del contraste por el interior del cuerpo fetal; y b) negativas: cuando el contraste se distribuyó por la placenta.

Resultados: De las 15 experiencias realizadas, 7 terminaron en parto, lo que supone una tasa de partos del 46,7%. En total nacieron 104 lechones (14,85 lechones nacidos totales/parto). De estos, 11 nacieron muertos (13,28 lechones nacidos vivos/parto). Dichos parámetros son similares a las cifras de gestaciones sin ningún tipo de intervención. Las otras 8 gestaciones resultaron en aborto, entre los 5 y los 56 días después de la inyección celular *in utero*. Del total de los 97 lechones nacidos se detectó quimerismo en células sanguíneas circulantes en 13 lechones mediante detección de HLA-I. El gen *Alu* humano, como indicador de presencia de células humanas, fue detectado en 33 lechones.

Conclusiones: La técnica de implante de células pluripotenciales percutánea ecoguiada en fetos de cerdo a los 50 días de gestación es adecuada para obtener animales que presenten quimerismo a nivel sanguíneo. Esto representa un avance con respecto a técnicas más invasivas que requieren de una laparotomía como se había descrito anteriormente en la literatura.