



expertos en células madre

Información técnica - TotiCyte™ de Cells4Life

TotiCyte es un reactivo con marcado CE que se utiliza para aislar la capa leucocitaria (la fracción de células madre) de la sangre del cordón umbilical. TotiCyte logra conservar el 97% de las células madre hematopoyéticas después del procesamiento (antes de la congelación) y el 63.2% de las células madre hematopoyéticas después de la descongelación. Esto significa que recupera 2,2 veces más células madre post-descongelación que el método de procesamiento líder en la industria actual en el momento del trasplante y hasta 5 veces más que con métodos de procesamiento menos eficientes.

Las células madre aisladas con la tecnología TotiCyte crecen de promedio 2.0 veces más que aquellas que se han procesado con el sistema líder de la industria, medido en crecimiento de unidades formadoras de colonias (CFU). CFU es la forma en que los laboratorios evalúan el rendimiento de las células madre viables para trasplante⁽¹⁾.

Eficacia

Hemos realizado pruebas internas de los tres sistemas utilizados por los bancos de sangre del cordón umbilical, lo que significa que podemos ofrecer una comparación significativa de TotiCyte con los otros métodos de procesamiento actualmente disponibles. En concreto, respecto al líder actual de la industria y al sistema actual de bajo coste.

Todos los análisis se llevaron a cabo siguiendo los protocolos recomendados por los fabricantes de cada sistema, por parte de técnicos que recibieron formación específica de cada uno de ellos.

Recuperación celular antes de congelación y después de descongelación

Los datos comparan la recuperación celular antes y después de la congelación de las células madre con marcador CD 34+

- CD 34+ es el marcador de las células madre hematopoyéticas, que son las que se usan en terapias con sangre de cordón.
- Antes de congelación significa el número de células madre viables una vez procesada la muestra, pero antes de criogenizarla.
- Después de descongelación significa el número de células madre viables una vez que la muestra se ha descongelado para ser utilizada en un trasplante.

Tabla 1. Comparación del número de células madre viables CD 34+ pre y post congelación entre TotiCyte y los sistemas líderes y de bajo coste (low cost) de la industria.

	Células CD 34+ viables	
	Antes de congelación	Después de descongelación
TotiCyte	96,9%	63,2%
Sistema líder	89,9%	32,1%
Sistema low cost	93,7%	18,3%

Fig 1. Comparación gráfica del número de células madre viables CD 34+ pre y post congelación entre TotiCyte y los sistemas líderes y de bajo coste (low cost) de la industria

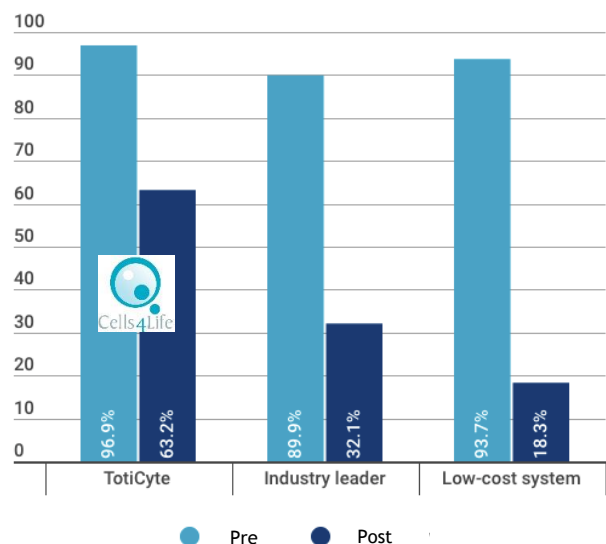


Tabla 2. Comparación del aumento en el número de células madre viables CD 34+ post congelación entre TotiCyte y los sistemas líderes y de bajo coste (low cost) de la industria. Se aplica una tasa de corrección del 95%

	Sistema líder	Low cost
Mejora de TotiCyte	2,24	4,30
Tasa de corrección 95%	1,43 - 3,05	2,35 - 6,26

Los tres sistemas son similares en resultados antes de congelación, logrando tasas de CD 34+ viables superiores al 90%.

Aun así, TotiCyte aventaja tanto al líder de la industria como al sistema low cost en un 7% y un 3,2% respectivamente

Las principales diferencias entre TotiCyte y el resto de sistemas ocurren después de la descongelación. El sistema de low cost pierde cerca del 80% de las células madre CD 34+ viables, y el sistema líder, un 70%. TotiCyte logra recuperar la cifra más alta de células madre tras la descongelación: un 63.2%.

Comparativamente, TotiCyte recupera 2.2 veces más células que el sistema líder y 4.3 veces más que el sistema low cost.

Aplicando una tasa de corrección del 95%, resultante de comparar el peor resultado de TotiCyte con el mejor de los otros dos sistemas, TotiCyte aun así logra entre 1.4 y 3.1 veces más células madre CDE 34+ viables tras la descongelación que el sistema líder de la industria, y entre 2.4 y 6.3 veces más que respecto al sistema low cost.

Crecimiento de CFU

También hemos comparado TotiCyte frente al sistema líder en cuanto al crecimiento de CFU (unidades formadoras de colonias). CFU es la medida que indica cómo se desarrollan y se multiplican las células. El crecimiento de CFU es el mejor indicador de cómo actuarán las células madre cuando sean trasplantadas. Cuanto más crezcan, más eficaces resultarán en el tratamiento para el que se utilicen. La medida de crecimiento de CFU es una medida estándar entre los centros de trasplante ⁽¹⁾

Tabla 3. Crecimiento de CFU

	TotiCyte	Sistema líder
Crecimiento CFU (promedio)	49,9	26,5

Los resultados demuestran que las células conseguidas con la tecnología TotiCyte crecen de promedio 2.0 veces más que aquellas que se han procesado con el sistema líder de la industria.

Tabla 4. Aumento en el número de células madre viables CD 34+ después de descongelación y crecimiento de CFU en unidades procesadas con TotiCyte comparadas con otras procesadas con el sistema líder. El factor de corrección del 95% compara los peores resultados de TotiCyte con los mejores del sistema líder.

Tasa de superioridad de TotiCyte vs. sistema líder (post descongelación + CFU)	4,86
Con 95% de tasa de corrección	2,02 - 7,70

Si se tiene en cuenta tanto los datos de antes de congelación como los de después de descongelación, así como el crecimiento de CFU, TotiCyte consigue en promedio 4,9 veces más células madre que el sistema líder de la industria. Con una tasa de corrección del 95% logra entre 2.0 y 7.7 veces más células madre.

El sistema TotiCyte

Añadido a la sangre de cordón en una proporción de 1:1, TotiCyte hace que los glóbulos rojos se sedimenten y caigan a la base de la bolsa. La capa de glóbulos blancos (que contiene las células madre) queda suspendida en el plasma, que se transfiere a una segunda bolsa. De este modo se consigue eliminar el 99% de los eritrocitos con una pérdida mínima de células madre. Se centrifuga entonces el plasma a baja intensidad para separar los leucocitos y reducir el volumen a 25 ml. Es posible que la baja intensidad de centrifugación sea la razón por la que se consigue una mayor recuperación celular y crecimiento de CFU.

Seguridad

Los componentes de TotiCyte son ingredientes que actualmente se utilizan en la terapia sanguínea.

El concentrado de DMSO en una muestra procesada con TotiCyte es de un 7.5%, mientras que en muestras procesadas con los demás métodos varía entre un 10% y un 12%. Habitualmente se transfunden estos niveles de DMSO como parte de los procesos de trasplante, por lo que se los considera seguros ⁽²⁾.

La concentración final de Dextrano en TotiCyte es de un 1.25%. Habitualmente se transfunden estos niveles de Dextrano sin efectos adversos ⁽³⁾.

También se transfunde PBS (tampón o buffer fosfato salino) de forma rutinaria en humanos sin efectos adversos ⁽⁴⁾.

Muchos centros de trasplante incluyen en su protocolo el lavado de la muestra antes del trasplante, lo cual significa que no habrá restos de DMSO o Dextrano en la unidad de sangre de cordón que se vaya a trasfundir al paciente ⁽⁵⁾.

Composición

- PBS 95%
- Dextrano 2.5%
- DMSO: 2.5%

Certificaciones

- Mercado CE
- ISO 13485
- Autorización de la HTA

Referencias

1. Page et al., 2011. Total Colony-Forming Units are a strong, independent predictor of neutrophil and platelet engraftment after unrelated umbilical cord blood transplantation: a single center analysis of 435 cord blood transplants. *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Vol.17 (9)*, 1362-74.
2. Fry et al, 2015. Assessing the toxic effects of DMSO on cord blood to determine exposure time limits and the optimum concentration for cryopreservation. *International Society of Blood Transfusion: Vol. 109 (2)*, 181-90.
3. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=105075, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/105075>.
4. Annual Reports in Medicinal Chemistry, Volume 43 Academic Press, 17 Dec 2008.
5. Nagamura-Inoue et al., 2003. Wash-out of DMSO does not improve the speed of engraftment of cord blood transplantation: follow-up of 46 adult patients with units shipped from a single cord blood bank, *Transfusion Vol 43: 1285-94*.