



ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE PROLIFERACIÓN CELULAR DE LOS CONDROCITOS, FRESCOS Y CRIOPRESERVADOS, PROCEDENTES DE CARTÍLAGO SUPERFICIAL VERSUS PROFUNDO.

M^a Esther Rendal Vázquez¹, Silvia Díaz Prado^{2,3}, Enma Muiños López², Margarita Rodríguez Cabarcos¹, Tamara Hermida Gómez², Javier Barallobre Barreiro², P. Filgueira Fernández², M^a José Sánchez Dopico², Francisco Blanco García², Cándido Andión Núñez¹.

¹Unidad de Criobiología. Hospital Juan Canalejo (La Coruña).

²Área de Terapia Celular. Hospital Juan Canalejo. CIBER-BBN La Coruña.

³Departamento de Medicina Universidad de La Coruña.

Objetivo. Comparar la capacidad proliferativa de los condrocitos procedentes de cartílago articular superficial versus profundo y estudiar el efecto de la criopreservación sobre la proliferación celular.

Materiales y Métodos. El estudio comprendió un total de 11 muestras de cartílago sano procedentes todas ellas de diferentes donantes de tejidos. De cada uno de los especímenes se procedió a separar el cartílago superficial del profundo y a someterlo a una digestión enzimática con colagenasa y tripsina. Se contaron las células y se separaron cuatro alícuotas con igual número de células, dos de ellas conteniendo células procedentes del cartílago superficial y las otras dos procedentes de cartílago profundo. Una alícuota de cada uno de los cartílagos se sembró en DMEM con un 20% de SBF. Para iniciar el ensayo de proliferación celular, el primer subcultivo se realizó en el mismo medio pero con un 10% de SBF. La proliferación celular se ensayó a los 3, 6 y 9 días, empleando para ello el azul de toluidina. Además, se desarrollaron micromasas para poder realizar estudios de inmunohistoquímica en cada uno de los pacientes. Las otras dos alícuotas de cada uno de los cartílagos se criopreservó a -196°C durante 3 meses. Transcurrido este tiempo se procedió a la descongelación y al cultivo de las mismas. Después de dos subcultivos se realizaron los mismos ensayos de proliferación que en los condrocitos frescos.

Resultados. De los 11 donantes de cartílago se obtuvieron 4 grupos de células a estudio: frescas procedentes de cartílago superficial (N=11); frescas procedentes de cartílago profundo (N=11), congeladas procedentes de cartílago superficial (N=8) y congeladas procedentes de cartílago profundo (N=10). En el grupo de las células frescas estimuladas, tanto procedentes de cartílago superficial como de profundo, y transcurridos 3 días se observó un incremento en la capacidad de proliferación con respecto al grupo control no estimulado, obteniéndose la mayor capacidad proliferativa a los 9 días (0.046 vs 0.028 p < 0.05). Para el caso de las células congeladas estimuladas, tanto procedentes de cartílago superficial como de profundo, y transcurridos también 3-6 y 9 días no se observó un incremento en la capacidad de proliferación con respecto al grupo control no estimulado (0,051 en superficial frente a 0,043 en profundo). El estudio inmunohistoquímico de las micromasas utilizando Ki67 y PCNA confirma estos resultados.

Conclusiones. Los mayores índices de proliferación celular se obtuvieron con condrocitos frescos procedentes de cartílago profundo. Estos resultados indican que la criopreservación celular afecta a la capacidad proliferativa de los condrocitos y por tanto a la capacidad de éstos para regenerar cartílago. Estas consideraciones deben tenerse en cuenta a la hora de su empleo en terapia celular para reparar lesiones focales del cartílago articular (autotransplante de condrocitos).

Financiación. Silvia Díaz Prado es beneficiaria de un contrato Isidro Parga Pondal (Xunta de Galicia, España).