



## UTILIDAD DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA HUMANA EN TERAPIA CELULAR PARA REPARAR LESIONES DEL CARTÍLAGO ARTICULAR HUMANO.

*M<sup>a</sup>. E. Rendal Vázquez<sup>1</sup>, S. Díaz Prado<sup>2,3</sup>, E. Muiños López<sup>2</sup>, T. Hermida Gómez<sup>2</sup>, M. Rodríguez Cabarcos<sup>1</sup>, J. Barallobre Barreiro<sup>2</sup>, M.<sup>a</sup> J. Sánchez Dopico<sup>2</sup>, P. Filgueira Fernández<sup>2</sup>, T. Bermúdez González<sup>1</sup>, F. Blanco García<sup>2</sup>, C. Andiñón Núñez<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Unidad de Criobiología. Hospital Juan Canalejo (La Coruña).

<sup>2</sup>Área de Terapia Celular. Hospital Juan Canalejo. CIBER-BBN La Coruña.

<sup>3</sup>Departamento de Medicina Universidad de La Coruña.

La capacidad de reparación del cartílago articular es muy limitada debido principalmente a que es un tejido avascular. Los tratamientos farmacológicos y las técnicas quirúrgicas existentes no son eficaces para reparar lesiones focales del cartílago, pues sólo consiguen retardar su progresión. La mayoría de los esfuerzos realizados hasta el momento con la finalidad de reparar una lesión del cartílago articular están encaminados a superar las limitaciones que posee este tejido para cicatrizar las lesiones, implantar nuevas células con capacidad condrogénica y facilitar el acceso al sistema vascular.

**Objetivo.** Con la finalidad de poder superar alguno de estos inconvenientes se desarrolló un modelo de reparación in vitro basado en la utilidad de la membrana amniótica criopreservada como soporte para el cultivo de condrocitos. Este modelo persiguió como objetivo final no sólo la reparación de las lesiones condrales sino también la generación de un tejido de nueva formación sobre la zona de la lesión con iguales características a las del cartílago articular nativo.

**Materiales y Métodos.** Se desarrollaron 13 modelos de reparación in vitro de lesiones focales del cartílago articular humano. Para ello se cultivaron condrocitos humanos, obtenidos a partir de biopsias, sobre parches de membrana amniótica criopreservada de 6x6 cm durante 3-4 semanas hasta que alcanzaron una confluencia del 80-90%. La membrana se cortó en fragmentos de 0,7x0,7 cm y cada uno de ellos se colocó sobre 3 punch de cartílago (de 6 mm de diámetro) artrósico o de cartílago normal al que se le practicó una lesión condral (de 2 mm de diámetro) sobre la superficie articular. Los 3 punch se cultivaron durante 4, 8 y 16 semanas. Transcurrido cada uno de estos tiempos se tomaba uno de los 3 punch que se incluyeron en parafina para su estudio posterior. La valoración de la reparación y/o regeneración del cartílago articular lesionado se realizó empleando técnicas histológicas e inmunohistoquímicas.

**Resultados.** Mediante técnicas histológicas (hematoxilina-eosina) e inmunohistoquímicas (colágeno tipo I y II), y en todos los modelos de reparación in vitro desarrollados, se observó que los condrocitos cultivados sobre la cara basal de la membrana amniótica expresaban colágeno tipo II pero no el colágeno tipo I, indicando que a pesar de estar en cultivo durante 3-4 semanas sobre la membrana amniótica, no se diferenciaron a fibroblastos. De los 13 modelos de reparación in vitro desarrollados, se observó reparación en los tres tiempos de cultivo ensayados (4, 8 y 16 semanas), sin poderse determinar un tiempo de cultivo en el que se obtuviese una mayor reparación de la lesión. El tejido generado expresa no sólo el colágeno tipo II sino también el colágeno tipo I. En cuanto a la calidad del tejido reparado podría decirse que en todos los modelos ensayados se forma un tejido fibrocartilaginoso.

**Conclusiones.** Los mayores índices de reparación de la lesión articular se obtuvieron indistintamente a las 4, 8 y 16 semanas de cultivo. El análisis del tejido de reparación reveló que se trata de un tejido fibrocartilaginoso. Estos resultados indican que la membrana amniótica criopreservada puede ser empleada como soporte para el cultivo de condrocitos en terapia celular para reparar lesiones del cartílago articular humano.

Financiación. Proyecto financiado por el Servicio Galego de Saúde (PS07/84). Silvia Díaz Prado es beneficiaria de un contrato Isidro Parga Pondal (Xunta de Galicia, A Coruña, España).