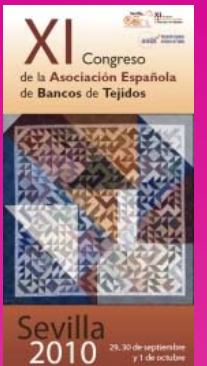




USO DE LÁMINAS DE MEMBRANA AMNIÓTICA COMO SUSTRATO EN CULTIVOS DE MELANOCITOS EN ENTORNO GMP



María G. Guzmán, Idoia Andueza, Dr. Pedro Redondo, Dr. Felipe Prósper, Dr. Enrique J. Andreu
Dpto. de Dermatología. Área de Terapia Celular. Clínica Universidad de Navarra.



INTRODUCCIÓN

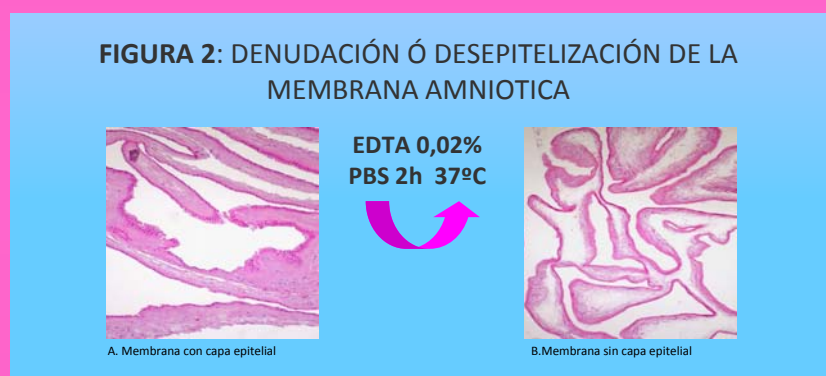
La membrana amniótica es un tejido semitransparente, delgado y avascular que posee propiedades antiangiogénicas, anti-inflamatorias, no presenta inmunogenicidad y es capaz de segregar factores de crecimiento. Estas características, junto con su facilidad de obtención y conservación, hacen que sea un tejido empleado ampliamente en diversas aplicaciones, entre las que destacan la regeneración tisular en lesiones cutáneas y mucosas, patologías de la superficie ocular o, más recientemente, como soporte para el crecimiento de diversos cultivos celulares empleados en terapia celular y su posterior implante en el paciente (1).

OBJETIVO

En este trabajo pretendemos demostrar que la membrana amniótica es un tejido idóneo para ser empleado como sustrato en el cultivo de melanocitos primarios autólogos (células encargadas de producir el pigmento en la piel) y para su posterior implante en pacientes con placas de vitíligo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La membrana amniótica se obtuvo del Banco de Tejidos de Membrana Amniótica de la CUN (Figura 1). El banco realiza una selección minuciosa de las donantes y las placentas se procesan siguiendo protocolos normalizados de trabajo basados en las recomendaciones de la AEBT. Los fragmentos obtenidos de membrana son validados y criopreservados cumpliendo todos los requisitos del sistema de calidad. Previamente a su utilización las membranas se tratan con EDTA para eliminar su capa de células epiteliales manteniendo intactas sus propiedades y facilitando así la adhesión de los melanocitos del paciente (Figura 2).



Sobre 14 pacientes con vitíligo estable se realizaron biopsias cutáneas a partir de las cuales se aislaron y expandieron sus melanocitos (2, 3) en el Laboratorio GMP del Área de Terapia Celular de la Clínica Universidad de Navarra (CUN), bajo Normas de Correcta Fabricación de medicamentos (Figura 3). Tras una primera expansión en frascos de cultivo, las células se sembraron sobre fragmentos de membrana amniótica. Las células se sembraron sobre la cara epitelial y su crecimiento, pureza y esterilidad fueron comprobadas antes del implante (Figura 4). Después de un tratamiento de dermo-abrasión por láser de las zonas de piel afectadas de placas de vitíligo, se implantaron las membranas recubiertas del cultivo enriquecido en melanocitos.

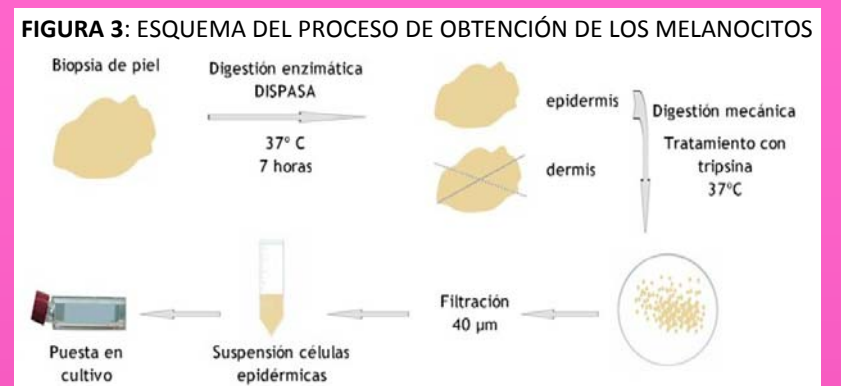
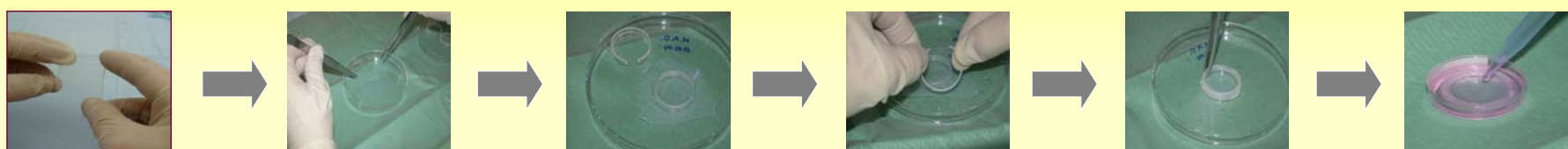


FIGURA 4: COLOCACIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA EN EL BASTIDOR Y POSTERIOR SEMBRADO DEL CULTIVO DE MELANOCITOS



RESULTADOS

Tras la primera expansión celular las células se adhirieron perfectamente a la membrana amniótica en el 100% de los casos y continuaron su expansión (Figura 5A). Tras el análisis inmuno-histoquímico empleando un anticuerpo contra HMB45, marcador típico de melanocitos maduros, se comprobó que tanto la reactividad como la morfología de las células obtenidas, coincidía con la descrita para un cultivo enriquecido en melanocitos (Figura 5B).

Tras un seguimiento de 6 meses tras el tratamiento, los pacientes no presentan reacciones adversas al trasplante y se observa repigmentación de las zonas implantadas (Figura 5C).

BIBLIOGRAFIA

- Redondo P, del Olmo J, García-Guzmán M, Guembe L, Prósper F Repigmentation of vitiligo by transplantation of autologous melanocyte cells cultured on amniotic membrane. Br J Dermatol 2008; 158: 1168-71.
- Olsson MJ, Juhlin L. Transplantation of melanocytes in vitiligo. Br J Dermatol 1995; 132:587-591.
- Olsson MJ, Juhlin L. Long-term follow-up of leucoderma patients treated with transplants of autologous cultured melanocytes, ultrathin epidermal sheets and basal cell layer suspension. Br J Dermatol 2002; 147: 893-904.

FIGURA 5: RESULTADOS DE LA EXPANSIÓN CARACTERIZACIÓN E IMPLANTE DE LOS MELANOCITOS EN PACIENTES DE VITÍLIGO

