

## TRATAMIENTO DE LA LESIÓN ÓSEA CRÍTICA EN UN MODELO ANIMAL MEDIANTE CÉLULAS STEM MESENQUIMALES

I.F. Graciani<sup>a</sup>, J.F. Blanco<sup>b</sup>, F.M. Sánchez-Guijo<sup>a</sup>, M.V. Barbado<sup>c</sup>, J.L. García<sup>a</sup>, I. Sánchez Cuadrado<sup>a</sup>, E.M. Villarón<sup>a</sup>, O. López Villar<sup>a</sup>, S. Tabera<sup>a</sup>, G. Cruz<sup>a</sup>, B. Blanco<sup>a</sup>, J.A. Pérez-Simón<sup>a</sup>, J.F. San Miguel, J.G. Briñón<sup>c</sup>, M.C. del Cañizo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca. <sup>b</sup> Servicio de Traumatología, Hospital Universitario de Salamanca. <sup>c</sup> Departamento de Biología Celular y Patología. Universidad de Salamanca

**Introducción:** Uno de los problemas claves en la práctica clínica en Traumatología es la reparación de lesiones óseas críticas, que se definen como aquellas que no puede repararse mediante los mecanismos fisiológicos. Las células stem mesenquimales (CSM) obtenidas de la médula ósea (MO) constituyen una opción atractiva para la reparación de estas lesiones, pues es bien conocida su capacidad de diferenciación ósea. Por ello, en el presente trabajo hemos evaluado la capacidad de estas células en un modelo animal de lesión crítica.

**Material y métodos:** Para ello, se aislaron CSM a partir de células mononucleadas de médula ósea obtenida de donantes sanos (n=5). Las CSM fueron expandidas en condiciones estándar en cultivo con DMEM + 10% de suero bovino fetal en atmósfera a 37 °C con 5% CO<sub>2</sub>. Tras el cuarto pase, se comprobó la pureza del cultivo (que fue > 95% en todos los casos) mediante citometría de flujo de acuerdo con el panel de consenso de la International Society for Cellular Therapy. A continuación se administraron una media de  $7.5 \times 10^5$  CSM (rango  $5-10 \times 10^5$ ) junto a una matriz de hidroxiapatita en un volumen final de 1 mL en la lesión crítica ósea. Dicha lesión crítica se realizó en 5 conejos New Zeland mediante la exéresis de un fragmento óseo uniforme en el condilo femoral externo de 1cm de diámetro por 0,5 cm de profundidad. Como control, se realizó la misma lesión en el cóndilo contralateral, que recibió el mismo volumen de hidroxiapatita sin contenido celular. Tras 4 semanas de la administración celular se procedió a sacrificar al animal para su posterior estudio histológico, que consistió en tinción con hematoxilina-eosina para evaluar la estructura del tejido óseo lesionado. Con el fin de localizar las CSM humanas en la región de interés, se realizó una hibridación in situ con sondas específicas de los cromosomas X e Y marcadas con biotina mediante "nick translation". Se realizó amplificación con tiramidas y revelado con diaminobencidina (DAB).

**Resultados:** En todos los casos, la lesión ósea crítica, en la que se administraron las células, fue reparada con formación de nuevo hueso, mientras que esto no ocurría en las lesiones control tratadas únicamente con hidroxiapatita. Además, el análisis del tejido mediante tinción con hematoxilina-eosina demostró la ausencia de reacción inflamatoria en la región de interés. Finalmente, la hibridación in situ confirmó la presencia de células humanas incluso a las 4 semanas de la administración, si bien estas células se encontraban en una proporción baja (< 5%)

**Conclusiones:** Las células stem mesenquimales humanas infundidas en lesiones óseas críticas en un modelo animal son capaces de contribuir a la reparación ósea. La administración no provoca efectos adversos (ausencia de infiltrado inflamatorio) y una pequeña proporción de las células infundidas permanece en el tejido receptor a medio plazo (4 semanas).