

## ANÁLISIS DEL POTENCIAL DE CÉLULAS TRONCALES DE TEJIDO ADIPOSO HUMANO EN HIDROGELES DE QUITOSANO-GELATINA

Erick, Martínez-Colín<sup>1</sup>; Roberto, Sánchez-Sánchez<sup>1</sup>; Valentín, Martínez-López<sup>1</sup>; Rogelio, Rodríguez-Rodríguez<sup>2</sup>; Hugo, Espinosa-Andrews<sup>3</sup>; Clemente, Ibarra<sup>1</sup>; Cristina, Velasquillo<sup>1</sup>; Zaira, Y. García-Carvajal<sup>4</sup>, Yaaziel, Melgarejo-Ramírez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra. Laboratorio de Biotecnología. Ciudad de México. C.P. 14389.

<sup>2</sup>Programa de Posgrado en Innovación Biotecnológica, CIATEJ. Jalisco. <sup>3</sup>Unidad Biotecnológica Médica y Farmacéutica. CIATEJ. Jalisco. <sup>4</sup>Unidad de Tecnología en Alimentos, CIATEJ. Jalisco.

Contacto: [ymelgarejo@inr.gob.mx](mailto:ymelgarejo@inr.gob.mx), [yaazielmr@gmail.com](mailto:yaazielmr@gmail.com)

*Palabras clave: chitosan hidrogels, mesenchymal stem cells, tissue engineering*

**Introducción.** Las células troncales mesenquimales derivadas de tejido adiposo (ASC) son una alternativa terapéutica con alto potencial en ingeniería de tejidos y terapia celular [1,2,3]. Se ha demostrado que la combinación de biomateriales como la gelatina (G), el quitosano (CS) y el alcohol polivinílico (PVA) mejoran las propiedades mecánicas de los biomateriales [4]. Los hidrogeles pueden ser utilizados para cubrir o encapsular células y biomoléculas, teniendo gran potencial en la regeneración cartilágeo y otros tejidos [5].

El objetivo de este trabajo fue determinar la biocompatibilidad y diferenciación condrogénica de ASC cultivadas en hidrogeles de G-CS-PVA

**Metodología.** Tejido adiposo humano fue donado de cirugías estéticas previa firma de Consentimiento informado. El tejido se digirió enzimáticamente, se separó la fracción vascular estromal (SVF) y se sembró en botellas de cultivo. El fenotipo celular se analizó utilizando marcadores de superficie para ASC mediante citometría de flujo. La multipotencialidad se analizó mediante cultivos en alta densidad y factores de crecimiento. Los marcadores condrogénicos: colágena tipo II (COL2), elastina (ELN) y agrecano (ACAN) se determinaron por inmunoensayos. Los hidrogeles de G-CS-PVA fueron sembrados con ASC y diferenciadas a linaje condrogénico en dos condiciones; diferenciadas *in situ* y prediferenciadas. La morfología y síntesis de matriz se analizó por SEM y la viabilidad celular mediante ensayos de fluorescencia.

**Resultados.** Se aislaron células adherentes de las SVF, las cuales presentaron morfología del tipo fibroblastoide, altamente proliferativas cuya confluencia se alcanzó a los 13 d. El análisis de fenotipo celular reveló que las células fueron CD73+ (99.24%), CD90+ (98.36%), CD105+ (97.94%), CD34- (1.16%), CD45- (0.37%) y HLA-DR- (0.13%). Se observó la presencia de vesículas lipídicas (adipogénesis) y depósitos de calcio (osteogénesis). La diferenciación condrogénica se comprobó mediante la

síntesis de una matriz extracelular rica en proteoglicanos (azul alciano), en conjunto confirmando la multipotencialidad de las ASC. Se observó a expresión de COL2, ELN y ACAN en células diferenciadas a linaje condrogénico después de 21 días. La viabilidad celular de ASC cultivadas sobre hidrogeles de G-CS-PVA sin inducción fue >95 %. El análisis por SEM mostró diferencias significativas en potencial de formación de matriz extracelular sobre los hidrogeles de G-CS-PVA, siendo la diferenciación *in situ* la condición más favorable para las ASC. De forma interesante, las ASC que se cultivaron y diferenciaron a linaje condrogénico directamente sobre los hidrogeles, formaron una monocapa que cubrió la superficie de manera uniforme y presentó viabilidad >90%. En contraste, las ASC prediferenciadas y cultivadas posteriormente sobre los hidrogeles mostraron poca adhesión celular a la superficie.

**Conclusiones.** Presentamos el potencial de las ASC derivadas de tejido adiposo humano para ser cultivadas sobre hidrogeles de G-CS-PVA y ser utilizadas como una estrategia en la regeneración de tejido cartilaginoso.

**Agradecimientos.** Este proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México con los apoyos FOSISS SALUD-2014-234073 y SALUD-2015-01-262404.

### Bibliografía.

1. Mahmoudifar N., Doran P.M. (2015). *Methods in Molecular Biology*, vol 1340. Humana Press, New York, NY
2. Guilak F, Estes BT, Diekman BO, Moutos FT, Gimple JM. 2010 Nicolas Andry Guilak, F., Estes, B. T., Diekman, B. O., Moutos, F. T., & Gimple, J. M. (2010). *Clinical orthopaedics and related research*, 468(9), 2530-40.
3. Kondo, M., Yamaoka, K., & Tanaka, Y. (2014). *International journal of molecular sciences*, 15(11), 21270-85.
4. El-Sherbiny, I. M., & Yacoub, M. H. (2013). *Global cardiology science & practice*, 2013(3), 316-42.
5. Liu, M., Zeng, X., Ma, C., Yi, H., Ali, Z., Mou, X., Li, S., Deng, Y., ... He, N. (2017). *Bone research*, 5, 17014.

