

## ESTUDIO BIOLÓGICO DE LAS CÉLULAS PLURIPOTENTES *SIDE POPULATION* CON EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR CASSETTE ABCG2 EN GANGLIOS LINFÁTICOS CON SOSPECHA DE LINFOMA

J. Serrano-López<sup>1</sup>, J. Serrano<sup>1</sup>, J. Sánchez-García<sup>1</sup>, C. Pérez-Seoane<sup>2</sup>, Y. Rangel<sup>2</sup>, B. Sánchez-Espiridión<sup>3</sup>, H. Pisonero<sup>3</sup>, M.A. Piris<sup>3</sup>, A. Torres-Gómez<sup>1</sup>

Servicio de <sup>1</sup>Hematología y <sup>2</sup>Anatomía-Patológica. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. <sup>3</sup>CNIO Patología Molecular Linfomas. Madrid

**Introducción:** *Side Population* (SP) son un tipo de células madre capaces de diferenciarse a tejidos y autorrenovarse. Se caracterizan por expulsar el colorante vital Ho342 a través de la bomba de expulsión de drogas ABCG2. Es una población heterogénea formada por células madre y progenitoras. También se han aislado en LAM y en neoplasias sólidas, siendo consideradas verdaderas células iniciadoras de tumor, pero su papel en Linfomas no ha sido estudiado. En este trabajo identificamos la población SP en biopsias de ganglios linfáticos procedentes de pacientes en estudio por sospecha de linfoma y su posible implicación en el desarrollo de estos tumores.

**Material y métodos:** Detectamos SP sobre suspensiones celulares de 48 muestras frescas de biopsias de ganglios linfáticos con sospecha de linfoma resuspendidas en medio HBSS con 5 µg/ml de Ho342 y Ac-Mo CD45, CD34, CD20 y CD19, analizando en citómetro FACsVantage con láser UV verificando mediante la inhibición de la bomba ABCG2 con Verapamilo. Obtuvimos mRNA de los bloques parafinados y analizamos la expresión de los genes ABCG2, NANOG y OCT-4 mediante sondas Taqman (Applied Biosystems) para hacer Semi-qRT-PCR normalizando con GUSB, HMBS y como calibrador muestras de placenta. Analizamos la expresión génica con método  $\Delta\Delta C_t$ . Y el software RealTimeStatMiner (Integromic®). La expresión de ABCG2 con AcMn BXP21 (Santacruz) se comprobó mediante inmunohistoquímica (IHQ) sobre muestras parafinadas, y como control positivo placenta humana.

**Resultados:** El 52% de los casos fueron Linfadenitis Reactivas (LR) (N=25), el 22% Enfermedad Hodgkin (EH) (n=10), el 24% Linfomas no Hodgkin (LNH) (N=12) y un Adenocarcinoma. En quince de las muestras ganglionares analizadas (31.2%) detectamos células SP, siendo de 12/15 (80%) LR y 3 EH; no se detectaron en ningún caso de LNH. En nuestra serie, la población SP fue predominantemente CD45+/CD34-/CD20-/CD19-, con una media±ES de detección de 2.48%±1.98. En niños <14 años encontramos más abundancia de células SP que en >14 años (8.83%±7.8 vs 0.36%±0.24, P= 0.064), sin diferencias en sexo o procedencia del ganglio. La expresión de ABCG2 por IHQ se correlacionó estrechamente con la detección citométrica de SP, mayoritariamente en centros germinales del folículo en LR y en células reactivas no tumorales en EH. El análisis cuantitativo de genes mostró una expresión media±ES del gen ABCG2 0.087±0.014, para NANOG 0.717±0.195 y para OCT-4 2.42 ±0.788. Encontramos asociación estadística entre las muestras con SP y la expresión de ABCG2 (P=0.010) pero no con NANOG y OCT-4. Asimismo, los pacientes con LR presentaron significativamente más células SP y más expresión del gen ABCG2 que el resto de casos (P=0.016 y P<0.01, respectivamente).

**Conclusiones:** La presencia de células troncales con fenotipo SP y confirmación histológica-molecular del transportador ABCG2, en muestras de ganglios linfáticos está restringida a aquellas muestras con procesos reactivos de pacientes jóvenes ó proliferación no neoplásica asociada a EH como respondedoras normales tisulares. Sin embargo, no detectamos células troncales SP como potenciales iniciadoras tumorales en ganglios con LNH.