

P-002

AUSENCIA DE TRANSDIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS DE CORDÓN UMBILICAL EN UN MODELO DE LESIÓN DESMIELINIZANTE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

M. Blanquer^a, F.M. Ruiz^a, P. Bleda^a, F. Iniesta^a, V. Vicente^a, S. Martínez^b y J.M. Moraleda^a

^aHematología y Oncología Médica Hospital Morales Meseguer. ^bInstituto de Neurociencias Universidad Miguel Hernández.

Introducción: Las enfermedades neurodegenerativas desmielinizantes no disponen de ningún tratamiento eficaz. Intentamos comprobar la capacidad regenerativa de los progenitores de cordón umbilical ante una lesión desmielinizante.

Metodología: Se realizó una lesión desmielinizante en el hemisferio parietal derecho mediante infusión intracerebral de LaIsolecitina a 59 ratones de entre 4 y 8 semanas de edad. En el hemisferio contralateral se infundieron células mononucleadas humanas de cordón umbilical, obtenidas en el mismo día de los experimentos. Las células se marcaron previamente a su infusión con CellTracker Orange (n = 22) o con Qtracker 605 (n = 8). También se infundieron células sin marcar (n = 12). En los controles se infundió SF (n = 8), sobrenadante del último lavado del CellTracker (n = 5), del Qtracker (n = 2) o nada (n = 2). Los ratones fueron sacrificados a las 24 horas de la infusión (n = 8) o a los 7 (n = 8), 15 (n = 19) ó 30 días (n = 24). Se realizó inmunofluorescencia utilizando los siguientes anticuerpos: anti-Human Nuclei, anti-HLA ABC y anti-CD45 para comprobar la procedencia humana de las células; anti-Nestina y anti-Doblecortina para comprobar si hubo diferenciación en células madre del SNC; bIII-tubulina para neuronas; NG2 y AA3 para oligodendrocitos; y GFAP para astrocitos.

Resultados: La mediana de células infundidas fue 250000 células nucleadas, 755,5 CD34+, 531 CD133+. En los ratones sacrificados a las 24h observamos células inmunopositivas para CD45, HLA ABC y Human nuclei en el lugar de la infusión y a lo largo y alrededor del cuerpo calloso, cruzando al hemisferio contralateral, coincidiendo con la presencia de hemorragia secundaria a la trepanación. En los cerebros con una supervivencia mayor, se observaron células con acúmulos de material autofluorescente en los mismos lugares en los que previamente se observaba la hemorragia. Muchas de estas células aparecían marcadas con CellTracker o con Qtracker, aunque la intensidad del marcaje del CellTracker no nos permitió afirmar si todas las células CellTracker positivas eran autofluorescentes. El material autofluorescente era marrónáceo en la luz transmitida, con afinidad por el Negro Sudán. No pudimos objetivar la presencia de células positivas para los antígenos humanos. Tampoco observamos doble marcaje de las células CellTracker o Qtracker positivas con los antígenos de células del SNC estudiados.

Conclusiones: Las células de cordón umbilical humanas sobreviven en el ratón adulto con lesión desmielinizante al menos durante 24 horas, y parecen desplazarse hacia la zona lesionada. Tras 7 días de infusión las células con marcadores humanos desaparecen y son sustituidas por células con un contenido autofluorescente, indistinguible como hemofucsina, además de los trazadores de las células infundidas. Ello sugiere que son células fagocíticas del huésped, en un probable fenómeno de rechazo inmunológico y que es necesaria una mayor inmunosupresión del animal para obtener injertos humanos estables.