

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DE REVASCULARIZACIÓN “IN VIVO” DE MONOCITOS OBTENIDOS DE SANGRE PERIFÉRICA

M. Alberca^{a,b}, N. López-Holgado^{a,b}, F.M. Sánchez-Guijo^{a,b}, J. Almeida^b, J.V. Rivas^c, J.M. López-Novoa^c, C. García^a, J.F. Pérez-Fontán^a, B. Blanco^{a,b}, L.I. Sánchez-Abarca^{a,b}, S. Tabera^{a,b}, J.A. Pérez-Simón^{a,b}, J.F. San Miguel^{a,b}, M.C. del Cañizo^a.

^aHospital Universitario de Salamanca. U. de Terapia Celular. Servicio de Hematología.

^bCentro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca. ^cDepartamento de Fisiología. Universidad de Salamanca

Introducción: Se ha descrito en los últimos años la existencia de células progenitoras endoteliales (CPE) circulantes en individuos adultos, creando numerosas expectativas en terapia celular de revascularización. Sin embargo, el origen de estas CPE no se conoce con certeza y algunos autores han sugerido que dichas células derivan de la línea monocito-macrofágica.

Objetivo: Analizar la capacidad de revascularización de monocitos humanos en un modelo de isquemia periférica de ratón.

Material y métodos: Se obtuvieron los monocitos mediante adherencia a partir de leuco-concentrados de hemodonaciones de sujetos adultos sanos y se comprobó su pureza mediante inmunofluorescencia. Como modelo murino se utilizaron ratones SWISS-nu/nu adultos a los que se les produjo una isquemia en la pata posterior izquierda mediante sección de la arteria y vena femoral. Para medir el efecto de la revascularización se utilizaron 3 técnicas: 1) Medida del flujo sanguíneo mediante láser Doppler (Moor Instruments). 2) Recuento del número de capilares en microscopio invertido (20X) utilizando como soporte informático el programa Visilog 6,2 (Noesis). Las preparaciones se tiñeron con CD31 fosfatasa alcalina, anti fosfatasa alcalina. Los resultados se expresan en N° de capilares/#mm². 3) Con el fin de comprobar si las células infundidas se incorporaban a los vasos se tiñeron las preparaciones con CD31 específico humano utilizando la técnica de inmunofluorescencia. Se establecieron 2 grupos de ratones a los que por vía intravenosa se les infundió: al grupo de estudio 10⁵ monocitos (n = 6) resuspendidos en suero fisiológico y un grupo control (n = 6) que recibió suero fisiológico. Se tomaron 25 medidas del flujo sanguíneo por animal, el día previo a la cirugía (referencia de flujo basal) y a distintos tiempo tras la lesión (días +1, +7, +14 y +28). A los 28 días se sacrificaron los animales y se procedió al recuento del número de capilares sobre los músculos vastos isquémicos y no isquémicos (referencia del número de capilares basal).

Resultados: La pureza de monocitos infundidos fue del 87% (80-92). El flujo sanguíneo alcanzado por los 2 grupos de ratones se muestra en la gráfica 1, siendo siempre superior en los ratones tratados con monocitos y alcanzando diferencias estadísticamente significativas en el día +14.

Gráfica 1: Medida del flujo sanguíneo: Monocitos vs Control

OJO FIGURA

Los ratones tratados con monocitos también presentaron mayor número de capilares 45(25-105) que los no tratados 28 (9-97) (p = 0,028). Cuando analizamos la presencia de células humanas en los vasos del ratón, en ningún caso se encontraron células incluidas en los vasos.

Comentarios: Los monocitos humanos infundidos incrementan la revascularización en modelo de isquemia periférica de ratón. Dicho efecto es máximo a los 14 días de la infusión de las células y parece que ejercen su efecto por un mecanismo paracrino.