



IDENTIFICACIÓN DE LOS GENES INDUCTORES DE APOPTOSIS Y SU CORRELACIÓN CON LOS PATRONES DE VIABILIDAD DE LAS CÉLULAS DE LA GELATINA DE WHARTON Y ENDOTELIALES AISLADAS DEL CORDÓN UMBILICAL.

A. Rodríguez Morata, M. Alaminos, B. Pérez Köhler, A. Fernández Montoya, J. Buján, A. Campos.

Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento de Histología, Universidad de Granada.

Centro Regional de Transfusión Sanguínea y Banco de Tejidos de Granada.

Departamento de Ciencias Médicas, Universidad de Alcalá.

Servicio de Cirugía Vasculard, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga.

Una de las fuentes más abundantes y accesibles de células madre es el cordón umbilical. En concreto, en el cordón umbilical podemos encontrar células mesenquimales multipotenciales de la gelatina de Wharton y células endoteliales vasculares (HUVEC), las cuales pueden obtenerse y almacenarse en Bancos de Tejidos para su utilización para la generación de órganos y tejidos artificiales mediante ingeniería tisular.

Objetivo. Comparar la viabilidad de células de la gelatina de Wharton y HUVEC en cultivo primario y determinar qué tipo celular presenta mayor viabilidad para su utilización en ingeniería tisular.

Metodología. Para la generación de cultivos primarios de HUVEC y de células mesenquimales de la gelatina de Wharton a partir del cordón umbilical humano, se utilizó tripsina y colagenasa I. Una vez generados los cultivos primarios, se procedió a evaluar la viabilidad celular de éstos mediante ensayos de exclusión de colorantes vitales (tinción con azul tripán). Para el análisis de expresión de genes relacionados con la apoptosis, se procedió a la extracción y purificación del ARN celular total, el cual se marcó y se hibridó frente al sistema de microarray U133 plus 2.0 de Affymetrix. Finalmente, se analizaron los genes involucrados en la ruta de las caspasas, determinándose los valores de expresión relativa de las células HUVEC respecto a las de la gelatina de Wharton para cada gen.

Resultados. El estudio de viabilidad celular mediante tinción con azul tripán mostró una mayor supervivencia de las células de la gelatina de Wharton en comparación con las HUVEC (96,7% frente a 90,5%). En segundo lugar, el análisis de microarray reveló que la mayor parte de los genes relacionados con caspasas se encontraban sobreexpresados en los cultivos primarios de HUVEC en comparación con los cultivos de células de la gelatina de Wharton, especialmente las caspasas 12, 10, 1, 6 y 7. Por el contrario, la expresión de caspasa 9 fue superior en las células de la gelatina de Wharton que en las HUVEC.

Conclusiones. Nuestros resultados muestran que la viabilidad de los cultivos de células de la gelatina de Wharton es superior a la de las HUVEC. El incremento en la expresión de caspasas de las HUVEC sugiere que algunas de estas células podrían estar experimentando un proceso de muerte celular por apoptosis. Por todo ello, se recomienda utilizar preferentemente células de la gelatina de Wharton para llevar a cabo protocolos de ingeniería tisular.

Financiado por FIS PI06/1784.