



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Farmacia -Programa de Bioquímica Clínica e Inmunología.

**Caracterización fenotípica y funcional de células
endoteliales transdiferenciadas desde células
Mesenquimales aisladas de gelatina de Wharton humana.**

VALERIA CONSTANZA AGUILERA RUDOLPH
CONCEPCIÓN-CHILE
2013

Profesor Guía: Claudio Aguayo Tapia
Dpto. de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

RESUMEN

Las células madres adultas han generado enormes expectativas en el contexto de la medicina regenerativa, especialmente las células madres mesenquimales (MSCs) las cuales son muy atractivas debido a su alto potencial de diferenciación, proliferación, plasticidad, baja inmunogenicidad y fácil cultivo, convirtiéndolas en una excelente fuente celular para la reparación de tejidos. Recientemente, se ha descrito que las MSCs aisladas de médula ósea, poseen la capacidad de transdiferenciarse hacia células con fenotipo endotelial, siendo capaces de migrar y participar en la neovascularización del tejido con injuria. Sin embargo, la médula ósea como fuente de aislamiento de MSCs, presenta limitaciones importantes, por esto, se han buscado fuentes alternativas para obtención de estas células, dentro de estas la gelatina de Wharton de cordón umbilical es considerada una excelente fuente de MSCs con alta capacidad de proliferación y de baja inmunogenicidad, ya que, no expresan antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Recientemente, se ha descrito que las MSCs aisladas de gelatina de Wharton humana (hWMSCs) pueden transdiferenciarse hacia células con fenotipo endotelial in vitro, pero no se ha demostrado su capacidad para sintetizar óxido nítrico y su contribución en procesos de neovascularización in vivo.

El objetivo de esta tesis es evaluar en un modelo de ratón la capacidad angiogénica de células con fenotipo endotelial transdiferenciadas a partir de células mesenquimales provenientes de gelatina de Wharton humana. Para esto, en esta tesis se aislaron y cultivaron MSCs de gelatina de Wharton humana y se transdiferenciaron a células con fenotipo endotelial, posteriormente fueron caracterizadas morfológica, fenotípica y funcionalmente, mediante la evaluación de la expresión de marcadores endoteliales y la actividad de sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), además se determinó la capacidad de formar estructuras tubulares en Matrigel in vitro y regeneración de lesiones tisular in vivo.

En este trabajo se logró aislar células mesenquimales desde gelatina de Wharton humana, las cuales cumplen con todos los criterios estipulados por la Sociedad internacional de terapia celular (ISCT) para definir a una célula mesenquimal como tal. Las hWMSCs son capaces de diferenciarse hacia adipocitos, osteocitos y condrocitos

además expresan los marcadores mesenquimales CD90, CD73 y CD105. Las hWMSCs son capaces de transdiferenciarse hacia células con fenotipo endotelial (hWMSCs-endotelial). Las hWMSCs-endotelial expresan los marcadores endoteliales CD31 y KDR. Los ensayos de conversión de L-[3H]arginina a L-[3H]citrulina, muestran que la formación de L-citrulina es mayor en hWMSCs-endoteliales 30 días en comparación a hWMSCs-endoteliales 14 días y hWMSCs. Estos resultados son coherentes con un aumento significativo en la biodisponibilidad de óxido nítrico en hWMSCs-endoteliales de 14 y 30 días en relación a hWMSCs, sugiriendo que a medida que las células hWMSCs se transdiferencian hacia un fenotipo endotelial, la síntesis de óxido nítrico (NO) aumenta. Por otro lado, los estudios en el modelo de neovascularización in vivo, indica que los animales tratados con hWMSCs-endoteliales presentan mayor score histológico, número y área de vasos sanguíneos en comparación con ratones tratados con hWMSCs. Finalmente, ensayos de inmunohistoquímica muestran que las hWMSCs, pero en mayor medida hWMSCs-endoteliales 30 días se incorporan al tejido de cicatrización sugiriendo que el efecto tisular es mediado por las células implantadas o por los factores producidos por las células. Nuestros resultados representan las primeras evidencias que demuestran que las células mesenquimales aisladas de gelatina de Wharton humana son capaces de transdiferenciarse a células con fenotipo endotelial (hWMSCs-endoteliales) con capacidad de sintetizar óxido nítrico y de favorecer procesos de neovascularización in vivo en modelo de ratón.