



## 6000-15. EVALUACIÓN FENOTÍPICA Y FUNCIONAL DE CÉLULAS PROGENITORAS CD133+ AISLADAS DESDE LA SANGRE PERIFÉRICA PARA SU IMPLANTACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CORONARIA AVANZADA

Pilar Jiménez Quevedo, Esther Bernardo, Arancha Pozzi, Juan José González Ferrer, Leopoldo Llorente, Santiago Redondo, Teresa Tejerina y Carlos Macaya del Hospital Clínico San Carlos, Madrid y Universidad Complutense, Madrid.

### Resumen

**Antecedentes y objetivos:** Se considera que las células que expresan el marcador CD133+ son una población de células progenitoras (CP) y células madre hematopoyéticas inmaduras con capacidad de diferenciación en células endoteliales. El objetivo del estudio fue analizar las características fenotípicas y funcionales de las CP CD133+ seleccionadas de pacientes con enfermedad coronaria avanzada.

**Métodos:** Subestudio del ensayo PROGENITOR que evalúa la seguridad y eficacia de la inyección transendocárdica de CP endoteliales autólogas CD 133 para angiogénesis terapéutica en pts con angina refractaria. Las CP CD133+ se aislaron en sangre periférica mediante movilizaron con G-CSF (5 ug/kg/12h) durante 4 días, se recogió la fracción mononuclear mediante aféresis y se realizó una selección positiva inmunomagnética con el sistema CliniMacs. Las características fenotípicas de las CP CD133 aisladas se evaluaron por citometría de flujo con los siguientes marcadores: CD45FITC, CD133PE, CD34PC7. La funcionalidad se valoró cuantificando el número de unidades formadoras de colonias (UFC) tras cultivo durante 7 días sobre placas de fibronectina, y se realizó un ensayo de proliferación (P) con un kit de ELISA de incorporación de DNA (Amersham) y de apoptosis (A) con un kit de ELISA de fragmentación de DNA (Roche). Se estudió la capacidad de formar microtúbulos con Matrigel y se analizó la expresión de la enzima aldehidodeshidrogenasa (ALDH) mediante el kit comercial (ALDEFLUOR).

**Resultados:** Hasta la fecha se han analizado 7 pacientes. Las características fenotípicas de la fracción CD133+ aislada fueron (media  $\pm$  DE): CD45 baja intensidad  $99,95 \pm 0,11\%$ ; CD133+  $82,42 \pm 10,3\%$ ; CD34+  $82,5 \pm 10,3\%$ ; CD133+CD34+  $80,9 \pm 10,9\%$ ; y CD133+CD34-  $0,04 \pm 0,04\%$ . El número de UFC (media  $\pm$  DS) fue  $19,9 \pm 20,05$  para 500.000 células cultivadas. La tasa de P con respecto a la fracción mononuclear fue 0,86 y la de A: 0,98 para 125.000 células cultivadas. Se observó una alta expresión de la enzima ALDH  $> 80\%$  y se demostró la capacidad de estas células de formar microtúbulos.

**Conclusiones:** Tras la selección inmunomagnética CD133+ de la fracción mononuclear de la sangre periférica se observó un alto porcentaje de células CD133+. Además esta fracción enriquecida es funcionalmente activa y posee potencial vasculogénico. Se presentarán en el congreso los resultados con un mayor número de pacientes.