

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

OBTENCIÓN Y EXPANSIÓN DE CÉLULAS MADRE INTESTINALES PARA LA SÍNTESIS DE ORGANOIDES Y SU CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y FISIOLÓGICA

Polo, María Belén

Guillermo H. Docena (Dir.), Cecilia I. Muglia (Codir.)

Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos (IIFP)

belenpolo@biol.unlp.edu.ar

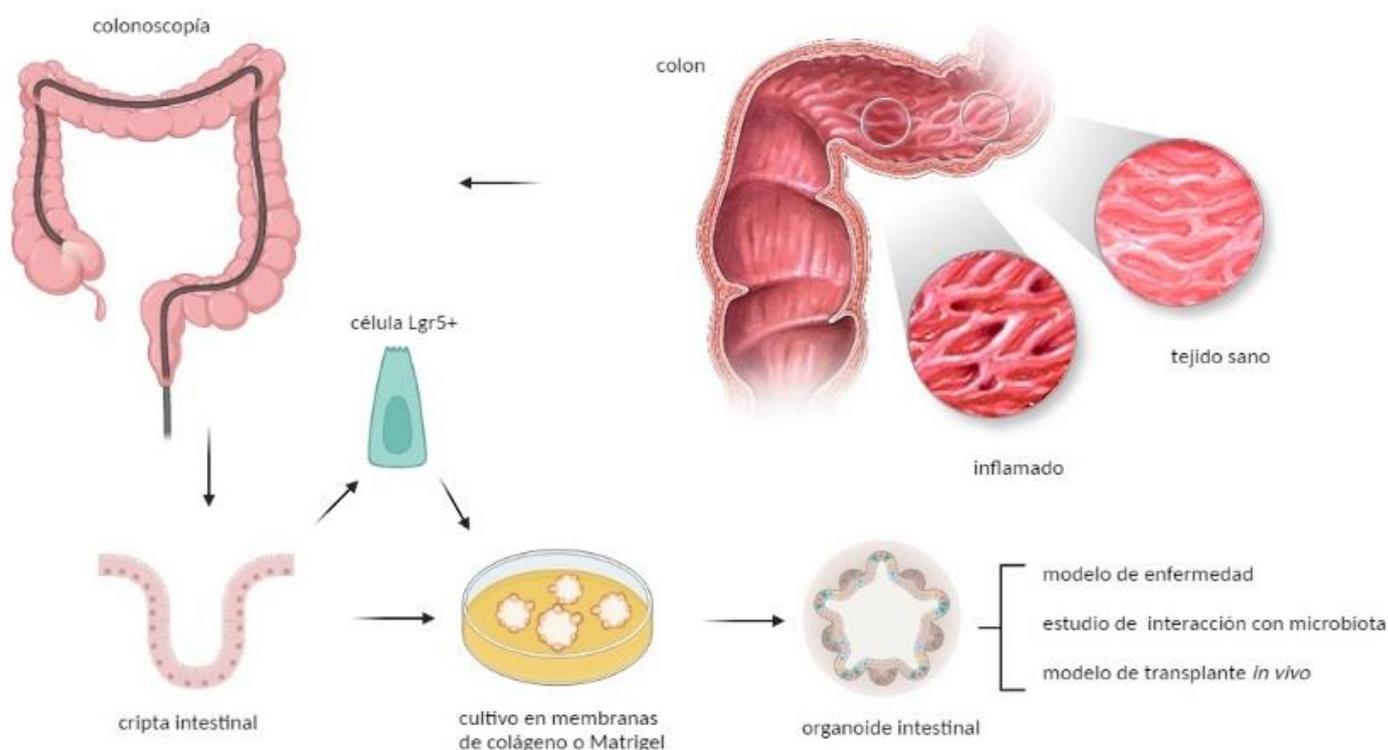
PALABRAS CLAVE: CÉLULAS madre intestinales, organoides, enfermedad inflamatoria

OBTAINING AND EXPANDING INTESTINAL STEM CELLS FOR THE SYNTHESIS OF ORGANOIDES AND THEIR BIOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION

KEYWORDS: intestinal stem cells, organoids, inflammatory bowel disease

Resumen gráfico

Obtención y expansión de células troncales intestinales para la síntesis de organoides y su caracterización biológica





Resumen

Las células epiteliales intestinales (CEI) constituyen elementos centrales en el sensado de la composición de la microbiota, en el mantenimiento de la integridad del compartimento intestinal como barrera física y en la interacción con diferentes células del sistema inmune local. Un reemplazo continuo de células diferenciadas mantiene la homeostasis del epitelio intestinal a través de la replicación de células madre intestinales (CMI) ubicadas dentro de las criptas. En enfermedades inflamatorias intestinales (EII) (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), alergia alimentaria (AA) y en cáncer de colon colorrectal (CCR) se ha demostrado que una disbiosis puede dar origen a procesos inflamatorios crónicos con un desbalance en las poblaciones celulares. Por lo tanto, el estudio de estas células, así como la interacción con la microbiota resultan esenciales para una mejor comprensión de la homeostasis intestinal.

Nuestro grupo muestra una trayectoria en estudios relacionados con el sistema inmune de la mucosa intestinal y patologías inflamatorias, tales como EII y alergia alimentaria, y en la optimización de las condiciones de cultivo de CEI humanas y murinas primarias junto a la síntesis de membranas de colágeno bovino orientadas. Hemos logrado que las CEI aisladas de intestino murino y humano sobrevivan al removerlas del

tejido, hemos identificado la presencia de células Lgr5+ (que es el marcador fenotípico de las células madre intestinales) y la posibilidad de mantener a estas células viables en cultivo 2D por más de 10 días. El Lgr5 es el receptor R-spondin y, se asocia a otras proteínas de membrana (LRP y la proteína llamada Frizzled) que son las responsables de activar la vía Wtn y generar β -catenina, esencial para mantener la viabilidad de las CMI. En base a estos resultados preliminares es que nos proponemos utilizar los métodos de cultivo de CEI, CMI, y organoides en membranas de colágeno bovino orientadas y en Matrigel™, una matriz solubilizada secretada por células del sarcoma de ratón Engelbreth-Holm-Swarm (ESH). La obtención de organoides 3D generados a partir de poblaciones celulares aisladas de muestras intestinales en distintas condiciones fisiológicas, nos permitirá estudiar aspectos fisiopatológicos tales como la expresión de marcadores fenotípicos, vías de señalización, proliferación y diferenciación celular. También podremos caracterizar las propiedades proliferativas y de maduración de estos cultivos para generar estructuras tisulares intestinales, y estudiar la interacción epitelio-microbiota mediante la incubación con componentes de ésta o con sus metabolitos.