

ACTIVIDAD DE CALCIO *IN VITRO* DE CÉLULAS CON IDENTIDAD DE ASTROCITOS DERIVADAS DEL EPITELIO OLFATORIO HUMANO Y SU TRASPLANTE AL NÚCLEO ESTRIADO MURINO.

V. Torres Sánchez, D. Vega Mackeprang, R. Arellano Contreras A. Hernández Cortés, A. Martínez-Torres.

Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular D15, Instituto de Neurobiología, UNAM campus Juriquilla, Querétaro, México.

El epitelio olfatorio humano se caracteriza por la constante regeneración de las neuronas olfativas sensoriales, dicha tarea es llevada a cabo por las células globosas y células horizontales que conforman este epitelio, las cuales cuentan con características fisiológicas de células troncales. Dada la posibilidad inducir la diferenciación de dichas células hacia otro tipo celular, se ha propuesto en nuestro grupo de investigación la diferenciación hacia astrocitos. El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de las células del epitelio olfatorio para generar astrocitos y comparar su actividad de antes y después de la inducción de su diferenciación *in vitro*; además se determinó su supervivencia después de trasplantarlas en el núcleo estriado murino.

Se cultivaron células globosas del epitelio olfatorio humano en medio DMEM-F12 y se indujo su diferenciación con medio comercial AM Sciencell. La identidad de las células se comprobó por inmunofluorescencia utilizando marcadores moleculares selectivos de astrocitos: GFAP, S100 β y Aldh1-L1. Por otra parte, las células se marcaron con un indicador de calcio fluorescente (Fluo 4-AM) y se determinó su actividad por microscopía de epifluorescencia (Olympus, 1,00 NA, 2,0 mm WD) a los días 3, 5 y 7 post- (n=10). Se adquirieron 2,400 imágenes por grabación, a una resolución de 1024x1024 pixeles, y tasa de adquisición de 4 imágenes por segundo. Para el análisis de imágenes se empleó el software Fiji-Image J y MatLab (FluoroSnap). Finalmente, se determinó la supervivencia de las células trasplantadas en el estriado después de 10 semanas por medio de análisis histológico.

Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que las células del epitelio olfatorio pueden ser inducidas a diferenciarse en células similares a astrocitos ya que expresan los marcadores selectivos para este tipo celular. Además muestran actividad de calcio espontánea antes y después de ser diferenciadas, sin embargo, exhiben diferencias en su actividad en los distintos puntos en el tiempo post-diferenciación y compartiendo similitud con los patrones de actividad de astrocitos. Finalmente, las células trasplantadas logran sobrevivir por al menos diez semanas formando múltiples procesos que aparentan ser astrocitos. Sin embargo, deberá probarse que éstas son activas y funcionalmente integradas en redes neuronales dentro del tejido.

Este estudio muestra el potencial de las células del epitelio olfatorio para derivar células similares a astrocitos que expresan marcadores típicos de estas células y muestran actividad de calcio endógena.