

RESUMEN

La terapia celular se ha convertido en uno de los enfoques más prometedores en el ámbito de la medicina regenerativa, demostrando su eficacia y seguridad en ensayos clínicos realizados en sujetos con lesión medular. Entre las terapias empleadas, las células madre neurales (NSCs/NPCs) son especialmente prometedoras pues tienen la capacidad de diferenciarse a cualquiera de los linajes neurales. Las estrategias traslacionales actuales incluyen NSCs derivadas de células madre embrionarias (ESCs), de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) o de líneas inmortalizadas de NPCs fetales, en todos los casos, sometidas a una manipulación significativa, lo que aumenta el potencial tumorigénico de dichas terapias. Asimismo, a pesar de los beneficios descritos en modelos preclínicos y en ensayos clínicos, la aplicación única del trasplante celular ha mostrado una limitada recuperación funcional. En esta tesis doctoral, se han estudiado distintas estrategias de combinación con la terapia celular, como el uso de fármacos y biomateriales, con el objetivo de mejorar y potenciar el efecto de la terapia celular en el rescate de la actividad neuronal, en la modulación del proceso inflamatorio, en la supervivencia del trasplante, así como en su integración y diferenciación en el tejido hospedador.

En el capítulo 1 evaluamos una terapia combinada de células madre neurales humanas derivadas de células madre pluripotentes inducidas (iPSC-NSCs) MSCs y un nanoconjugado de curcumina (PA-C). Nuestro estudio *in vivo* demostró que el trasplante de iPSC-NSCs + MSC + PA-C en un modelo subagudo de lesión medular incrementa la preservación de fibras neurales y reduce el tamaño de la cicatriz fibrótica. Adicionalmente, el tratamiento local con PA-C estimula la polarización de la microglía activada tras la lesión a un perfil M2 antiinflamatorio, asociado con un efecto pro-regenerador. Así, el tratamiento combinado con PA-C confiere mayor neuroprotección en comparación con los tratamientos individuales. Sin embargo, no encontramos mejorías funcionales significativas en ninguna de las combinaciones estudiadas.

En el capítulo 2 desarrollamos una estrategia novedosa para el trasplante de iPSC-NSCs combinado con PA-C mediante el uso de un andamio de ácido hialurónico en

forma de semi-luna, que permite realizar el trasplante celular y el tratamiento farmacológico de forma mínimamente invasiva. Además, la estructura biohíbrida generada con el material de ácido hialurónico, las iPSC-NSC y la PA-C puede incluir fibras recubiertas de polipirrol (PPY) para el guiado axonal. El hidrogel autoensamblable, denominado comercialmente Puramatrix (PM), se emplea para embeber las iPSC-NSCs y la PA-C en el andamio para su posterior liberación e incorporación en el tejido medular. Una semana después de inducir lesión medular se realizaron los implantes y una semana después del implante se analizaron los tejidos. Cabe destacar que el implante *per sé* ha demostrado no causar un daño adicional en la médula espinal durante la implantación. Además, los análisis histológicos demostraron que el tratamiento combinado de iPSC-NSCs y la PA-C presentaban una mayor preservación de fibras neuronales en la zona de la lesión y una reducción de la extensión de la cicatriz fibrosa.

Por último, en el capítulo 3 se describe una estrategia terapéutica que se aproxima más a la traslación clínica mediante el trasplante de progenitores neurales fetales humanos (hfNPCs). Estos precursores son obtenidos de medulas espinales de muestra fetal de estadios tardíos en la gestación, obtenidos tras interrupciones legalmente inducidas entre la semana de gestación 19,0-21,6. Se describe además un nuevo procedimiento de condicionamiento del trasplante por tratamiento previo con la forma conjugada del inhibidor de Rho/Rock fasudil (PGA-SS-FAS). En un modelo de lesión medular aguda, en ratones inmunodeficientes (NU(NCr)-Foxn1nu), el trasplante de hfNPCs condicionadas previamente con PGA-SS-FAS, favorece una mayor distribución del trasplante de dorsal a ventral, en la zona de la lesión, aumenta la preservación de las interneuronas somatosensoriales Lbx1 inhibitorias y las Tlx3 excitatorias, e incrementa la activación neuronal alrededor del epicentro de la lesión en comparación con el grupo control no transplantado.

Así pues, en la presente tesis doctoral se estudia y describe el beneficio aportado por hasta tres estrategias combinatorias de terapia celular, incrementando los efectos neuroprotectores sobre el trasplante celular individualizado en el tratamiento de lesiones medulares agudas y sub-agudas.