

Efecto protector de derivados de membrana amniótica humana en un modelo *in vitro* de estrés oxidativo sobre células de epitelio pigmentario de la retina

Valverde Gastón¹, Berra Alejandro¹⁻², Torbidoni Ana¹⁻³

1-Laboratorio Traslacional de Inmunopatología y Oftalmología. Departamento de Patología. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires

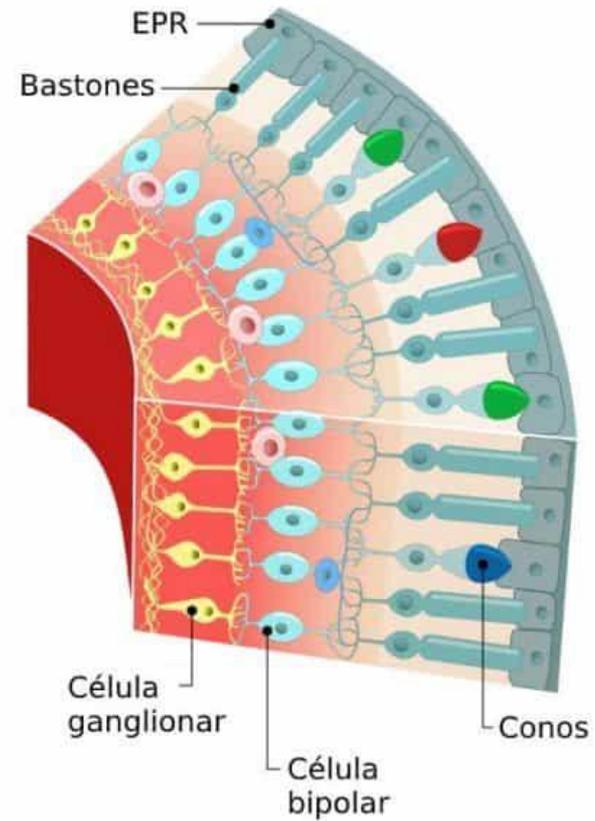
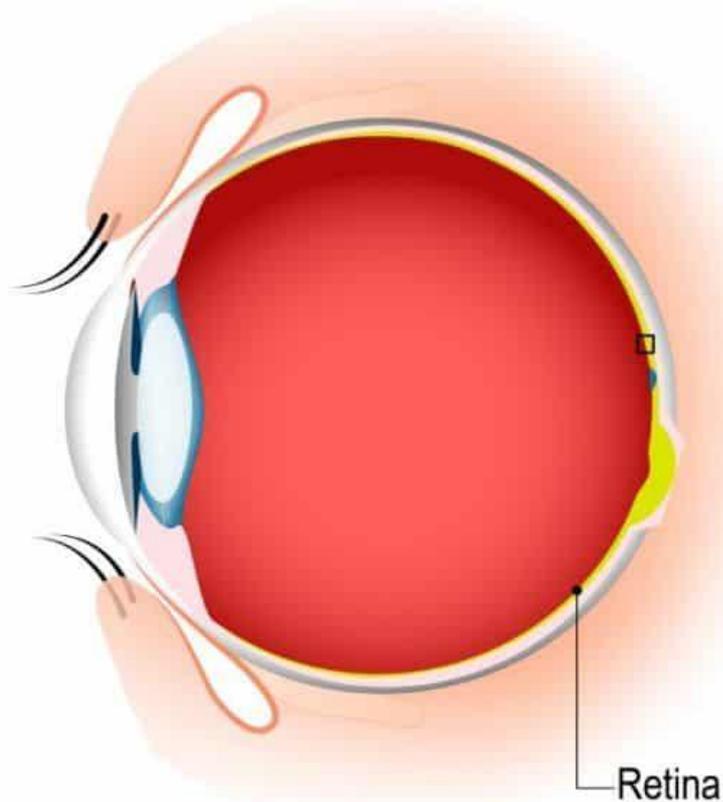
2-Centro de Medicina Traslacional - Hospital El Cruce Néstor Kirchner

3-Instituto Argentino de Veterinaria, Ambiente y Salud (IAVAS)

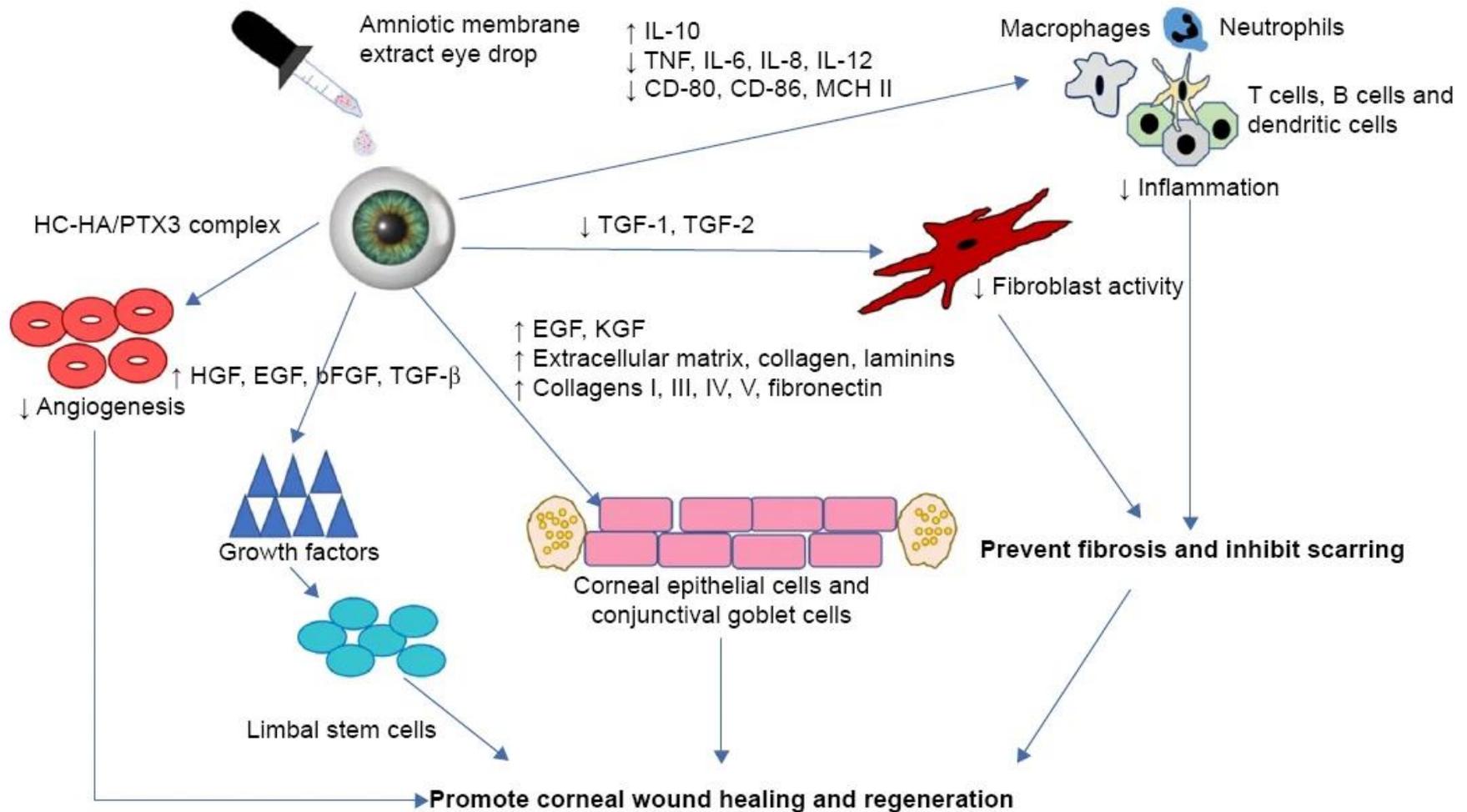
Universidad Juan Agustín Maza (UMaza)

vtorbidoni@umaza.edu.ar

¿En qué patologías de la retina podría ser aplicada la hAM?



¿Por qué usar hAM?



Objetivos

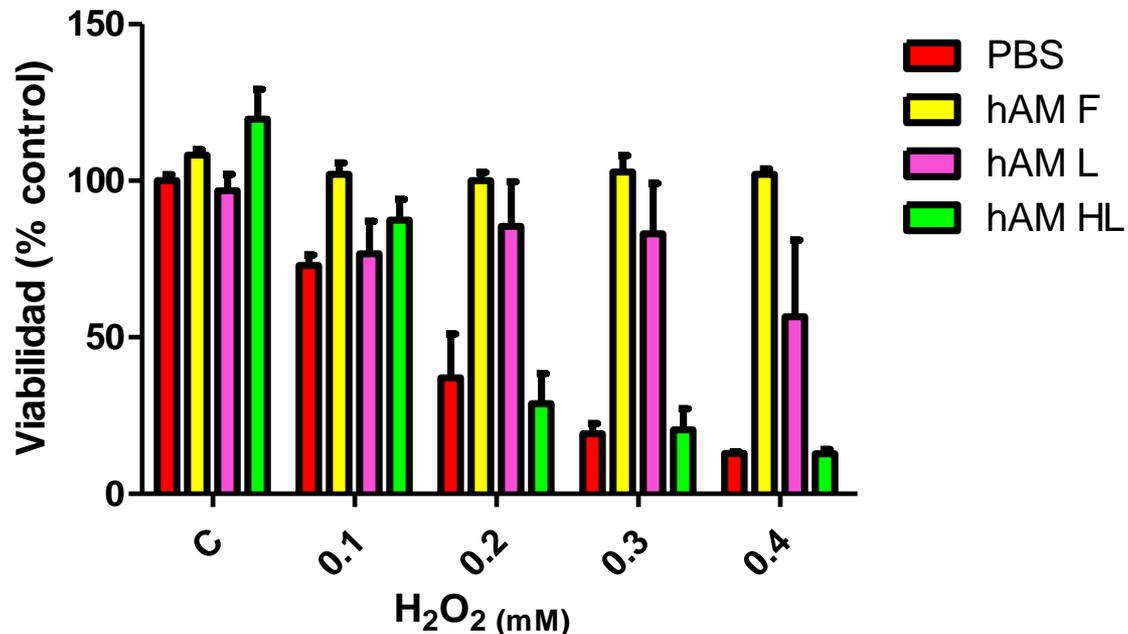
Analizar el efecto de derivados hAM sobre, la viabilidad celular, proliferación y migración y señales inflamatorias en un modelo *in vitro* de DMAE

Materiales y Métodos

- Modelo de DMAE: células de epitelio pigmentario de la retina humana (ARPE-19) fueron sometidas a daño oxidativo con tratamiento con peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , 0,1-0,4 mM).
- Tratamiento con derivados de hAM: las células se pretrataron o postrataron con derivados de hAM: fresca (F-hAM, 30ug), liofilizada (L-hAM, 100ug) y hAM homogeneizada-liofilizada (HL-hAM 100ug).
- La viabilidad celular se evaluó con el ensayo de MTT, la proliferación y migración con el ensayo de la herida y se midieron IL-6 e IL-8, usando kits de ELISA.

Resultados: SOBREVIDA

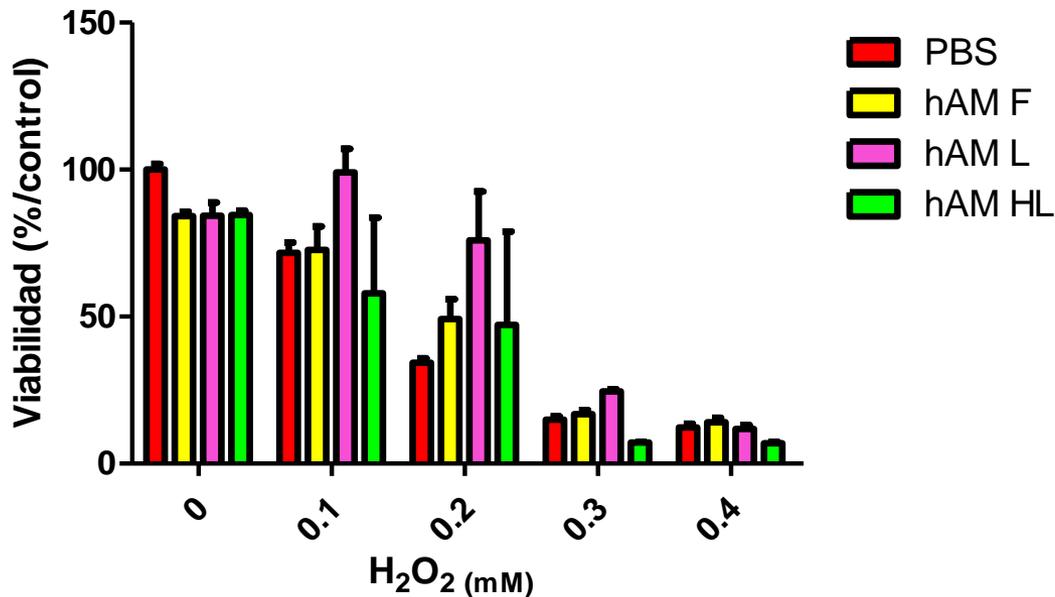
Pre-tratamiento con hAM previene los efectos de H_2O_2 sobre células ARPE-19



- La viabilidad celular se reduce de manera dependiente de la concentración de H_2O_2 .
- El tratamiento previo con hAM Fresca (hAM F) y hAM liofilizada (hAM L) previene la reducción de la sobrevivencia celular inducida por H_2O_2 .

Resultados: SOBREVIDA

Post-tratamiento de hAM reduce los efectos de H_2O_2 sobre células ARPE-19

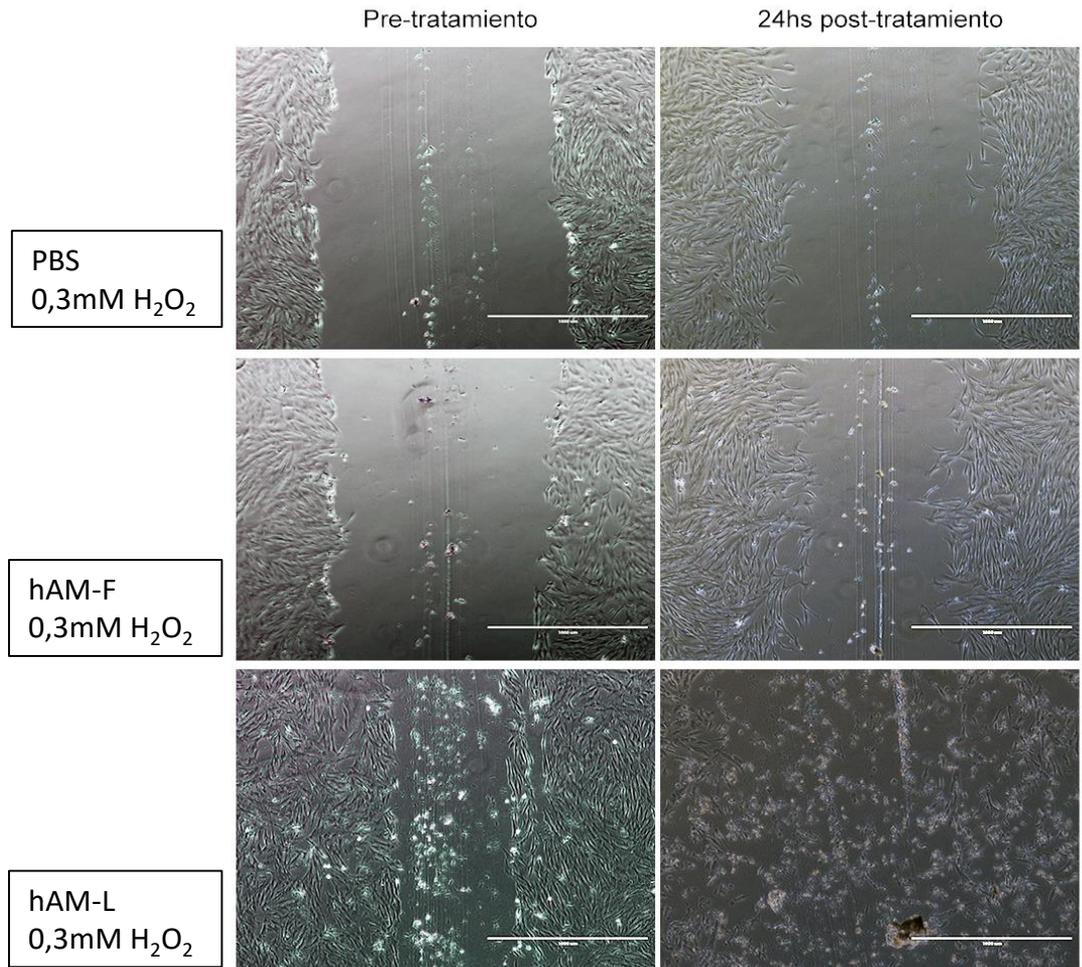


- La viabilidad celular se reduce de manera dependiente de la concentración de H_2O_2 .
- El tratamiento posterior con hAM Fresca (hAM F) y hAM liofilizada (hAM L) si bien redujo el efecto del tratamiento con H_2O_2 , no se observa en las concentraciones más elevadas.

Resultados: PROLIFERACIÓN Y MIGRACIÓN

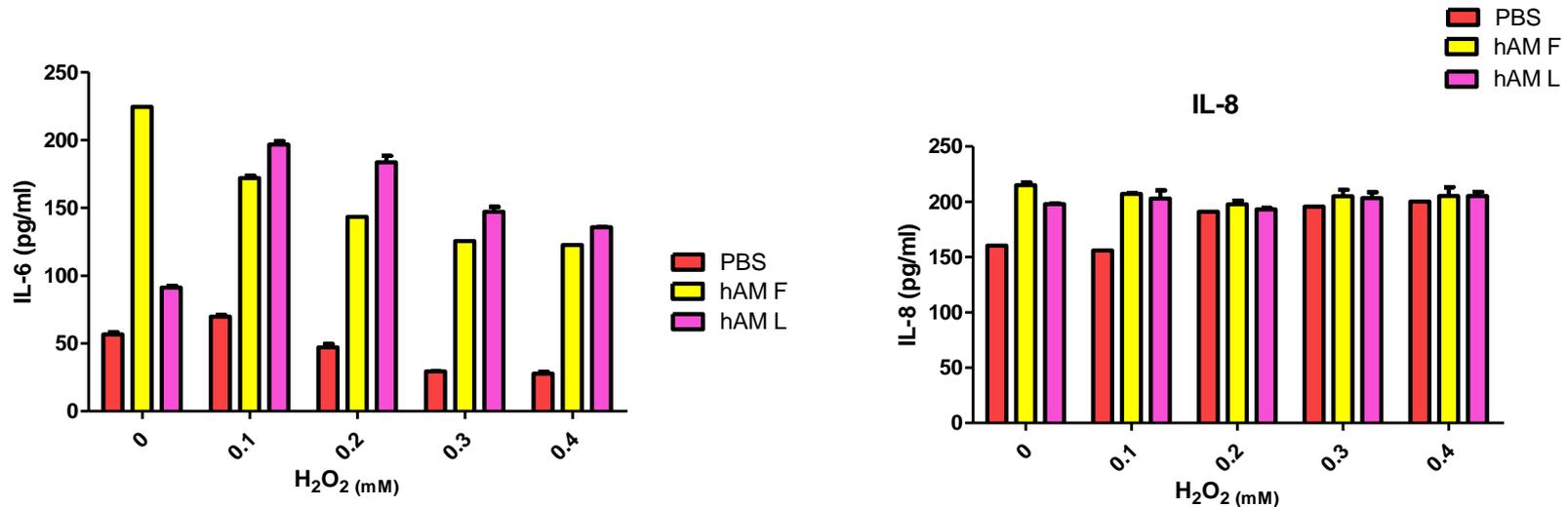
- Realizamos una herida con la punta de una pipeta sobre la monocapa de células ARPE-19. Fotografiamos.
- Agregamos hAM:
 - 50ug de hAM F
 - 100ug de hAM L
- Incubamos 3hs y agregamos H_2O_2 o PBS.
- Se fotografiaron nuevamente a las 24hs.

El tratamiento con hAM-F induce la migración y proliferación celular incluso con el agregado de H_2O_2



Resultados: MOLÉCULAS INFLAMATORIAS

Las IL-6 e IL-8 pro-inflamatorias se mantuvieron elevadas luego del tratamiento con hAM



El tratamiento con H₂O₂ indujo un leve incremento en IL-6 y mayor en IL-8. El tratamiento con hAM F y hAM L, produjo incrementos mayores en ambas interleukinas.

Conclusiones

El pretratamiento con hAM protege a las células ARPE-19 de la reducción de la viabilidad inducida por H_2O_2 .

El tratamiento con hAM-F induce la proliferación y migración celular, incluso en condiciones de estrés oxidativo.

No se observa un efecto sobre las interleukinas pro-inflamatorias IL-6 e IL-8, incluso su agregado induce mayores incrementos en comparación a los inducidos por H_2O_2 .

Este material derivado de la hAM podría ser efectivo en prevenir el avance de la DMAE en su variante seca.

Los mecanismos de protección podrían estar vinculados a los procesos de reducción del estrés oxidativo, radicales libres y/o la provisión de factores de crecimiento, sin involucrar una reducción de la respuesta inmune. Sin embargo, podría involucrar la modulación de otras moléculas pro o anti-inflamatorias diferentes a las evaluadas.