

Estudio de los sueros ricos en factores de crecimiento y de su efecto sobre células de epitelio corneal

Objetivos: Estudiar cómo afecta a la concentración de determinados factores de crecimiento presentes en los sueros la filtración (utilizado como método de esterilización) y el tratamiento por calor (utilizado para la inactivación del complemento). Además de estudiar el efecto de un bioadhesivo (ácido hialurónico, HaNa), aplicado solo o conjuntamente con el suero rico en factores de crecimiento (s-PRGF), sobre la capacidad de las células de epitelio corneal (HCE) para proliferar y migrar.

Materiales y métodos: Se midió mediante kits ELISA comerciales la concentración en las diferentes condiciones de filtración y calentamiento de las siguientes biomoléculas EGF (Epidermal Growth Factor), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), HGF (Hepatocyte Growth Factor), PDGF (Platelet-derived Growth Factor) y la Fibronectina. Teniendo en cuenta el papel de la proliferación y migración celular en los procesos de cicatrización se han realizado dos ensayos diferentes *in vitro*: un ensayo MTT para estudiar la viabilidad y la proliferación celular y el método de la herida (*Scratch wound-healing assay*) para determinar la capacidad migratoria de células bajo ciertos tratamientos: BSA (Bovine Serum Albumin) al 1% como control, FBS (Fetal Bovine Serum) al 10%, s-PRGF al 45%, s-PRGF al 45% con HaNa 0,1% y HaNa al 0,1%

Resultados: En el caso de la filtración, se observa una mayor pérdida de factores utilizando un filtro con una membrana de PVDF (Durapore®) para todos los factores estudiados. El calentamiento produce una reducción de la concentración superior al 50% en el caso del HGF y EGF, manteniéndose constante en el caso del VEGF. La mezcla de diferentes muestras con el complemento inactivado para formar un *pool* no presenta cambios en la concentración al compararlo con la media de las muestras utilizadas. Por tanto, la utilización de un *pool* del hemoderivado no supone pérdida de factores de crecimiento, haciendo de ello un procedimiento perfectamente aceptable para los ensayos celulares. El tratamiento con s-PRGF y el combinado con el bioadhesivo promueven la proliferación y migración de las células de epitelio corneal

(HCE) *in vitro* de manera similar, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ambos.

Conclusiones: La adicción del bioadhesivo no produce efecto tóxico en las células, sin embargo, no se han encontrado efectos beneficiosos en cuanto a proliferación y migración se refiere. . A este respecto, creemos que hay que dar un paso más haciendo comprobaciones *in vivo*, ya que, a diferencia de la experimentación *in vitro* los componentes de los hemoderivados no están indefinidamente en contacto con las células sino por un espacio de tiempo muy reducido. Por ello, la concentración de factores de crecimiento en la aplicación *in vivo* es especialmente importante, y no sería conveniente reducirla mediante procedimientos físicos como la filtración o el calentamiento.