

Victoria Maneu, Damián López, Miguel Ángel Company, José Antonio González-Belló, Guillermo Gerona, Cristina García, Mercedes Palmero

## ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TIOPROLINA SOBRE CÉLULAS DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA (EPR) SOMETIDAS A HIPOXIA

La hipoxia es un estímulo que provoca apoptosis mediante desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial y liberación de radicales libres. Estudios previos realizados utilizando como modelo células de EPR, cuya muerte por apoptosis provoca la aparición de enfermedades como la degeneración macular asociada a la edad, han sugerido que agentes antioxidantes como la tioprolina pueden proteger a las células frente a la apoptosis inducida por hipoxia. Nuestro objetivo es estudiar el efecto de la hipoxia sobre la expresión de genes relacionados con la apoptosis en células EPR y el efecto de la tioprolina sobre la expresión de estos genes.

En nuestro trabajo hemos utilizado células EPR, a las que sometimos a hipoxia durante 72 h, en una atmósfera con un 3% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>, con y sin tratamiento con tioprolina 3 mM. Posteriormente purificamos el ARN de las células y analizamos la expresión de diversos genes mediante RT-PCR semicuantitativa. Para el análisis de los datos se desarrolló un programa informático con el que, mediante un proceso de binarización, se aislaron de la imagen los fragmentos correspondientes a las bandas, promediando los valores de gris (intensidad) de cada uno de estos fragmentos.

El análisis de los resultados nos muestra una diferencia de expresión de varios de los genes estudiados (fas, CASP3, CASP6, CASP4, bax, GAPDH) en situación de hipoxia, que es modificada por la presencia de tioprolina, lo que sugiere un efecto protector de esta frente a los cambios inducidos en situación de estrés.