

**Póster****Protección de la Heparina a las células B-pancreáticas frente a radicales libres de Oxígeno.**

Martín Domínguez A, Salguero Aranda C, Beltrán Povea A, Tapia Limonchi R, Hitos Prados AB, Díaz Contreras I, Tejedo Huamán JR, Bedoya Bergua FJ.

Departamento Terapia Celular y Medicina Regenerativa. CABIMER, Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa. Avenida Américo Vespucio S/N, Isla Cartuja. Sevilla. Universidad Pablo de Olavide, CIBERDEM, RED-TERCEL, Sevilla, España.

**Palabras clave:** células mononucleares; heparina; radicales libres de oxígeno

**RESUMEN**

La diabetes autoinmune tipo 1 se caracteriza por la invasión de células mononucleares en los islotes pancreáticos, destruyendo así las células beta productoras de insulina. Se ha visto que in vivo la destrucción autoinmune de los islotes se asocia con la producción de heparanasa, la cual degrada heparán sulfato (molécula imprescindible para la supervivencia de los islotes) y se permite la entrada de las células inmunitarias que atacarán los islotes beta pancreáticos. Se han obtenido resultados mediante la adición de concentraciones conocidas de heparina, la cual confiere una protección extra frente a radicales libres de oxígeno y como consecuencia hay una disminución de la mortalidad celular.

A través de tres líneas celulares distintas se ha llevado a cabo el experimento. Primeramente con Rinm5F productora de insulina y somatostatina, con células Ins capaces de responder al estímulo de glucosa produciendo y secretando insulina y finalmente con fibroblastos. El experimento se basa en dejar crecer las cepas celulares en un número determinado de flacs según el tratamiento. Se añade heparina a una concentración conocida y establecida anteriormente y al día siguiente con una concentración exacta de agua oxigenada (aporta los radicales libres de oxígeno) se la añadimos al cultivo. Recogemos las células y gracias al yoduro de propidio con concentración 1 mg/ml marcamos las células muertas para así poder comprobar el porcentaje de supervivencia celular que le ha conferido la heparina a cada línea celular. Procedemos a realizar el conteo con el citómetro que indica el % de muerte celular, ya que el yoduro de propidio es un agente intercalante que se une a los ácidos nucleicos. Esta molécula fluorescente se utiliza para evaluar la viabilidad celular o el contenido de ADN en las células. Se puede utilizar para diferenciar células necróticas, apoptóticas o vivas.

Los resultados obtenidos con las líneas celulares Rinm5F y las Ins nos muestran que a bajas concentraciones de agua oxigenada y con heparina, efectivamente hay protección ya que la muerte celular se reduce de un 10 a un 15%. En cambio con los fibroblastos no vemos protección a ninguna de las concentraciones establecidas, resultado que ya esperábamos en nuestra hipótesis inicial. Estos resultados sólo son el inicio de un largo estudio, ya que primero se ajustan las concentraciones a trabajar con radicales libres de oxígeno, pero en un futuro el estudio se realizará también con radicales de nitrógeno.

**BIBLIOGRAFIA**

Andrew F. Ziolkowski, Sarah K. Popp, Craig Freeman, Christopher R. Parish, and Charmaine J. Simeonovic. (January 2012). The Journal of Clinical Investigation, Vol. 122, Number 1. Heparan sulfate and heparanase play key roles in mouse beta cell survival and autoimmune diabetes. Department of Immunology, The John Curtin School of Medical Research, The Australian National University, Canberra, Australia.