

## ANTECEDENTES

- La exposición prolongada a conservantes, principalmente al cloruro de benzalconio (BAK), desencadena reacciones de toxicidad sobre la superficie ocular.<sup>1</sup>
- Se ha postulado al Hialuronato de Sodio (HS) como potencial agente neutralizante de la toxicidad inducida por el BAK.<sup>2,3</sup>
- El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto protector del HS frente a la toxicidad inducida por el BAK en un modelo *in vitro*.

## MÉTODOS

Se utilizó la línea celular NAV14, derivada del epitelio conjuntival murino, para simular la superficie ocular *in vitro*. Para ello se expusieron monocapas celulares a concentraciones crecientes de BAK (0,001%; 0,005%; 0,01%) y de HS (0,2%; 0,3% y 0,4%) por 15 minutos, para luego lavar y reponer medio de cultivo.

Se evaluó la **viabilidad celular** luego de 2hs, midiendo la actividad metabólica (método indirecto) por reducción de resazurin y la liberación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) al sobrenadante (método directo) utilizando reactivo CyQUANT®; y también la **capacidad de migración y proliferación celular** a lo largo de 24hs, mediante ensayo de cicatrización de herida.

Los resultados se analizaron por ANOVA de 2 factores (BAK y HS). La significancia estadística se definió como  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

En los 3 ensayos, el BAK tuvo un efecto negativo sobre la viabilidad celular y la capacidad migratoria y proliferativa concentración-dependiente, siendo mínimo al 0,001% y máximo al 0,01% ( $p < 0,001$ ), mientras que el HS demostró su efecto neutralizante y protector de la toxicidad, también de forma concentración-dependiente, siendo mínimo al 0,2% y máximo al 0,4% ( $p < 0,001$ ).

### Referencias:

1. Baudouin C, Labbé A, Liang H, Pauly A, Bringle-Badouni F. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res*. 2010; 29 (4): 312-334.
2. Yu F, Liu X, Zhong Y, Guo X, Li M, Mao Z, Xiao H, Yang S. Sodium Hyaluronate decreases ocular surface toxicity induced by benzalkonium chloride-preserved latanoprost: an *in vivo* study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54: 3385-3393.
3. Liu X, Yu FF, Zhong YM, Guo XX, Mao Z. Therapeutic effect of sodium hyaluronate on ocular surface damage induced by benzalkonium preserved anti-glaucoma medications. *Chin Med J*. 2015; 128 (18): 2444-2449.
4. Araki R, Nakashima M, Teshima M, Owaki Y, Nakashima MN, Uematsu M, et al. Investigation of protective effects of sodium hyaluronate eyedrops against corneal epithelial disorders using an electrophysiological method. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2012; 28 (3): 251-258.

## Viabilidad celular

### I. Actividad metabólica

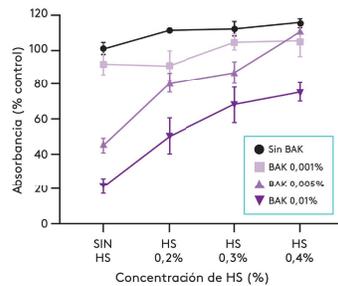


Figura 1. Actividad metabólica en función de la concentración de HS por concentración de BAK. Mayores porcentajes de absorbancia con respecto al control se traducen como una mayor actividad metabólica lo cual representa una mayor viabilidad celular.

### II. Liberación de LDH

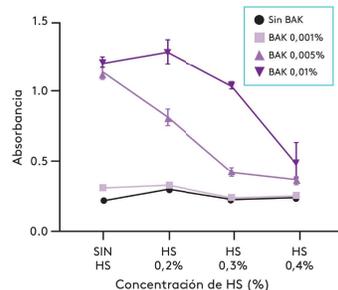


Figura 2. Actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en función de la concentración de HS por concentración de BAK. Mayores valores de absorbancia indican una mayor liberación de LDH, lo que representa una mayor muerte celular.

## Proliferación y migración celular

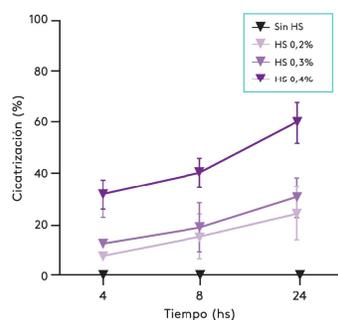


Figura 3. Cicatrización de la herida respecto al control en función del tiempo para las células incubadas con BAK 0,01%. A mayor porcentaje de cicatrización de la herida mayor capacidad de proliferación y migración celular.

## CONCLUSIONES

El Hialuronato de Sodio tiene una acción protectora y neutralizante de la toxicidad inducida por el BAK que es dependiente de la concentración del mismo, observándose el mayor grado de protección con la concentración ensayada de Hialuronato de sodio 0,4%.

Estos hallazgos apoyan el uso clínico de lubricantes oculares con HS como neutralizante de la toxicidad inducida por el BAK sobre la superficie ocular.

El HS, a diferencia de otros lubricantes, presenta un mecanismo de acción específico que impide la muerte celular (Figura 4).

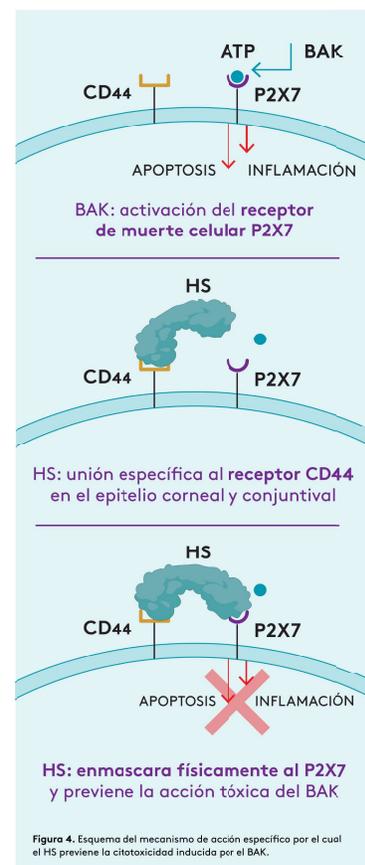


Figura 4. Esquema del mecanismo de acción específico por el cual el HS previene la citotoxicidad inducida por el BAK.