

Establecimiento de las condiciones de irradiación UVA en un modelo de cultivo celular de HaCaT para identificar fotosensibilizantes

Montserrat Mitjans¹, Berta Chia, Adriana S Maddaleno¹, M. Pilar Vinardell¹

¹Fisiología, Dept. de Bioquímica i Fisiología, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona
Corresponding author's e-mail: mpvinardellmh@ub.edu



Introducción y objetivos

Entre las reacciones adversas a sustancias contenidas en productos de uso diario para el hogar, formulaciones para el cuidado personal e incluso en productos farmacéuticos, se engloban las reacciones de fotosensibilidad (fotoirritación o fotoalergia). Las reacciones de fotosensibilización se producen cuando coinciden concomitantemente la aplicación de un producto químico, tópica o sistémicamente, con la exposición a la luz solar. Por otro lado, para garantizar la seguridad de los productos farmacéuticos, los ensayos preclínicos deben incluir ensayos de fototoxicidad y fotoalergia. En este sentido, el desarrollo de nuevos ensayos alternativos a la experimentación animal para predecir estas reacciones adversas se engloba dentro de las recomendaciones existentes a nivel europeo.

En este trabajo se han puesto a punto las condiciones de un ensayo *in vitro* con el objetivo final de poder identificar productos químicos con capacidad fotosensibilizante.

Material y métodos

Para ello se ha seguido la guía OECD TG 432 con ligeras variaciones (1), tal y como se muestra en la Figura 1. Los compuestos utilizados para la puesta a punto han sido la Clorpromazina (CPZ) y el Dodecil sulfato de sodio (SDS)

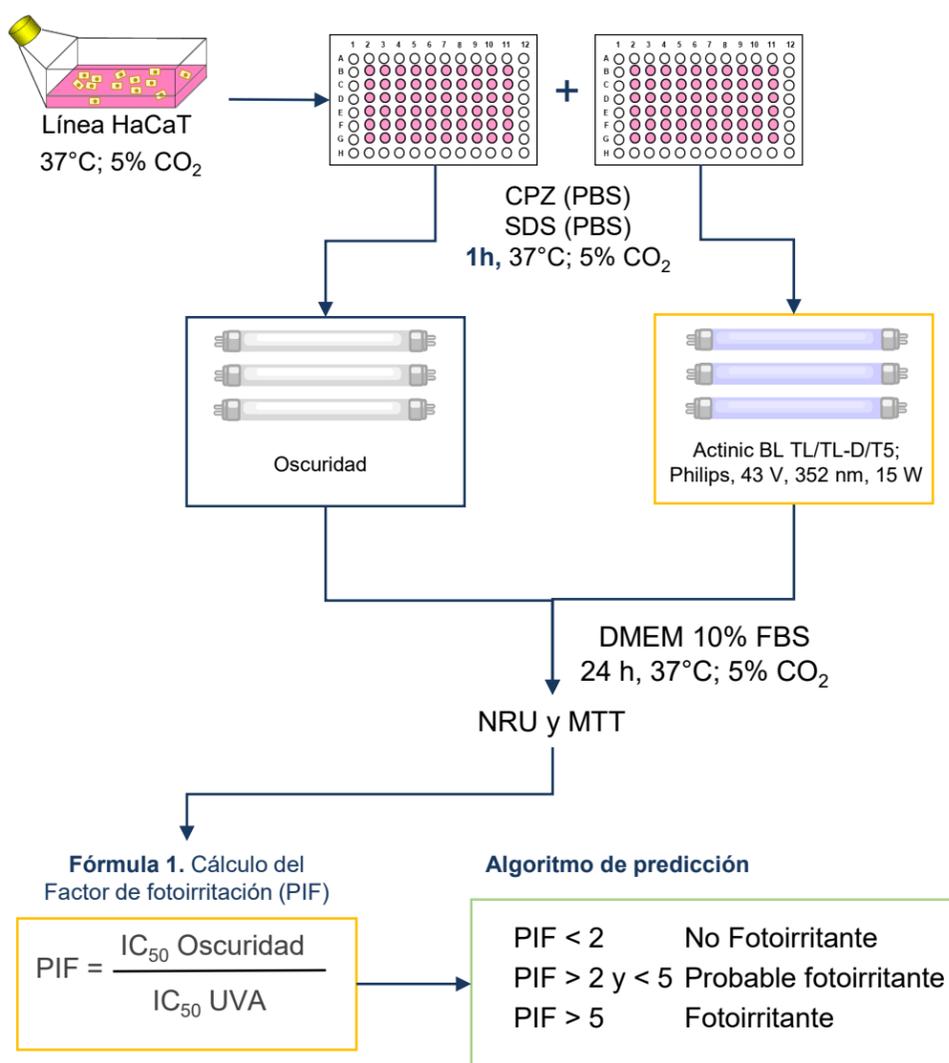


Figura 1. Esquema del ensayo. Para establecer la dosis de luz, se determinó la irradiancia de las lámparas antes de la exposición de las células mediante un fotoradiómetro Delta OHM y una sonda UVA (HD2302 – Italy).

Bibliografía

- OECD TG 432, 2019. In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test
- Chia, B. 2022. Establishment of an in vitro biological photoassay to identify chemical photosensitizer. Trabajo de fin de grado. <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/184714>

Agradecimientos

Proyecto PID2020-113186RB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033

Resultados (II)

Tabla 1. Viabilidad* de las células control expuestas a UVA

	NRU	MTT
5 J/cm ²	85,7 ± 3,3	66,9 ± 7,7
4 J/cm ²	85,9 ± 2,3	86,5 ± 2,0

*Porcentaje de células viables respecto las células no expuestas a la luz. Los resultados se expresan como el promedio ± error estándar de n = 6-12.

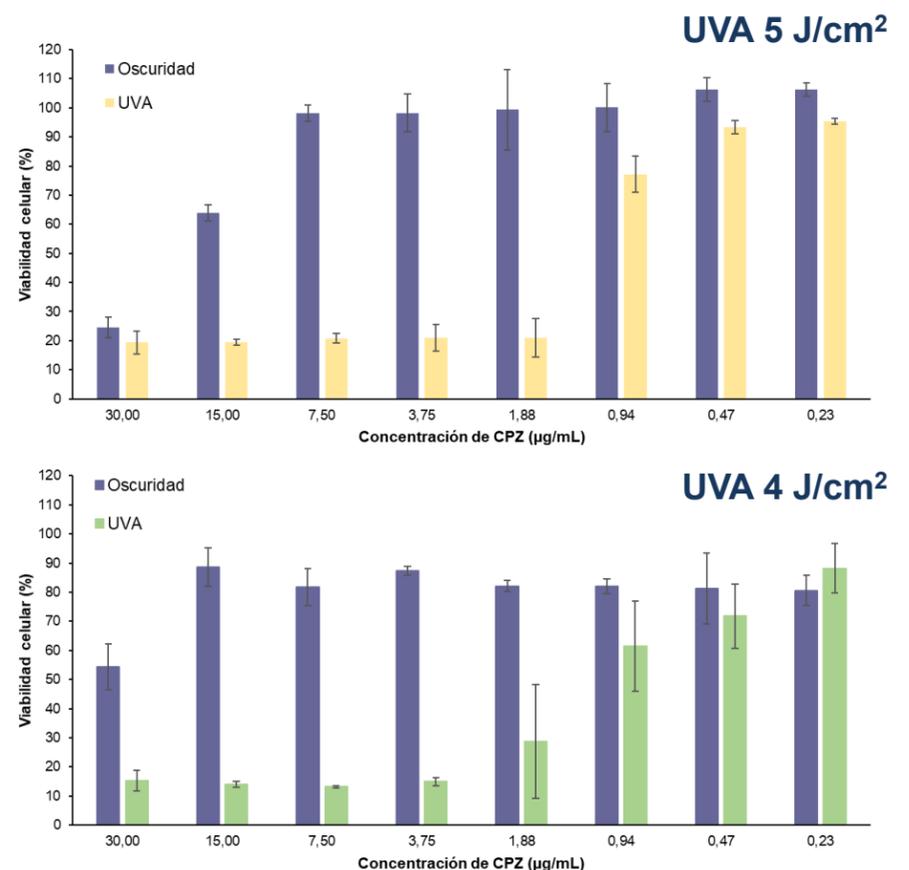


Figura 2. Viabilidad celular de los queratinocitos obtenida mediante MTT, tratados con diferentes concentraciones de CPZ y expuestos a 5 J/cm² i 4J/cm². El porcentaje de células viables se ha calculado respecto a las células no tratadas con CPZ (control oscuridad y UVA). Los resultados se expresan como el promedio ± la desviación estándar de mínimo 3 réplicas.

Tabla 2. IC₅₀ y PIF* obtenida para la CPZ en las diferentes condiciones

	NRU			MTT		
	IC ₅₀ Osc	IC ₅₀ UVA	PIF	IC ₅₀ Osc	IC ₅₀ UVA	PIF
5 J/cm ²	21,1	2,1	9,9	27,6	0,5	53,0
4 J/cm ²	34,9	2,0	28,3	44,2	0,8	61,9

*Calculado a partir de la fórmula 1.

Tabla 3. IC₅₀ y PIF obtenida para el SDS a 4 J/cm²

	NRU	MTT
IC ₅₀ Osc	42,2	18,0
IC ₅₀ UVA	29,7	11,4
PIF	1,4	1,6

*Calculado a partir de la fórmula 1.

Conclusiones

- Las células irradiadas y no expuestas a CPZ (control UVA) muestran una viabilidad > 85% respecto a las células no irradiadas (control oscuridad) en todos los ensayos, excepto para el caso del MTT a 5 J/cm².
- La CPZ se clasifica como un producto fototóxico independientemente de la dosis de UVA. Mientras que el SDS se clasifica como no fototóxico.
- La dosis de 4 J/cm² es más adecuada atendiendo la viabilidad de las células control UVA.

Una vez determinada la dosis de irradiación adecuada, se pretende extender el estudio a una batería de productos con capacidad fototóxica conocida y evaluar por otro lado la fotogenotoxicidad.