

Otro - Póster

**Efecto de la Temperatura de Almacenamiento del Medio
Condicionado Sobre la Conservación de Vesículas Extracelulares
Pequeñas Secretadas por Células Madre Mesenquimales**

Santa Cruz, D.M.; Malvicini, R.; Yannarelli, G.G.; Pacienza N.A.

Laboratorio de Regulación Génica y Células Madre, IMeTTyB, Universidad
Favaloro-CONICET, CABA

Contacto: *npacienza@gmail.com*

En los últimos años, estudiamos y caracterizamos las vesículas extracelulares pequeñas (EVs) derivadas de células madre mesenquimales (MSCs). Por eso, optimizamos un sistema de cultivo de MSCs, establecimos y caracterizamos un método cromatográfico de purificación de EVs a partir de medio condicionado (CM) y estandarizamos un ensayo funcional para determinar su actividad anti-inflamatoria. Luego, siendo la temperatura un parámetro determinante sobre la estabilidad de las vesículas, decidimos evaluar cuál es la mejor condición de almacenamiento del CM que permite preservar las características cuali-cuantitativas de las EVs. Para ello se colectó el CM derivado de MSCs de cordón umbilical (48 h) y se almacenó a +4°C o -20°C por 1, 7, 14 y 42 días (n=6). Para cada condición se midió, respecto al día 0 o control: la concentración y distribución de tamaño de partículas mediante NTA, la concentración de proteínas por el método de Bradford, y la presencia del marcador de EVs, CD63, mediante ELISA. La actividad anti-inflamatoria de los CMs se expuso por valoración de la capacidad de inhibición de la adquisición del fenotipo pro-inflamatorio de células RAW264.7 estimuladas con LPS (secreción de IL6 por ELISA). Observamos que el almacenamiento de los CMs a +4°C provoca una fuerte caída en la concentración y el tamaño de las EVs, especialmente en las primeras 24 h (reducción del 30% y 12% respectivamente, p0,01). Un efecto similar se obtuvo en la expresión de CD63, pero no se registraron variaciones en la concentración de proteínas. Interesantemente, solo los CMs almacenados a -20°C conservaron todos los parámetros evaluados y preservaron el efecto anti-inflamatorio respecto al día 0. En conclusión, el almacenamiento del CM a -20°C nos permite obtener vesículas de mejor calidad y en mayor cantidad que a +4°C. Estos resultados denotan la importancia de establecer un protocolo de trabajo controlado y estricto que asegure el mejor rendimiento y maximice el impacto terapéutico.