

Wirksamkeit unterschiedlicher Fucoide auf Toxizität und VEGF in okulären Zellen

Philipp Dörschmann¹, Kaya Saskia Bittkau², Sandesh Neupane², Johann Roider¹, Susanne Alban², Alexa Klettner¹

¹ UK S-H, Campus Kiel, Augenklinik

² Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Pharmazeutisches Institut, Abteilung Pharmazeutische Biologie

Hintergrund: Fucoide sind sulphatierte Polysaccharide aus Braunalgen, die aufgrund ihrer vielfältigen biologischen Wirkungen auch für eine Anwendung in der Augenheilkunde interessant sind, insbesondere im Rahmen der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD). Die Eigenschaften der Fucoide können dabei je nach Spezies variieren. In dieser Studie haben wir die Eigenschaften von Fucoiden aus fünf unterschiedlichen Spezies in Bezug auf oxidativen Stress und VEGF Interaktion untersucht.

Methoden: Fucoide aus den Spezies *Fucus vesiculosus*, *Fucus evanescens*, *Fucus serratus*, *Laminaria digitata* und *Saccharina latissima* wurden mittels einer Heißwasser-Extraktionsmethode gewonnen und in unterschiedlichen Konzentrationen getestet (1, 10, 50 und 100 µg/ml). Als Zellen dienten eine uveale Melanomzelllinie (OMM-1), die RPE Zelllinie ARPE19 und primäre RPE Zellen. Das Zellüberleben wurde mit MTT und MTS-Assays untersucht. Oxidativer Stress wurde mit H₂O₂ oder tert-butylhydroperoxide (TBHP) induziert. Die VEGF Sekretion wurde mit ELISA detektiert und die Affinität der Fucoide zu VEGF mit einem kompetitiven Bindungsassay untersucht.

Ergebnisse: Alle Fucoide schützen OMM-1 Zellen vor oxidativen Stress. Bei ARPE19 Zellen war dagegen nur das Fucoide von *Saccharina latissima* wirksam. Alle Fucoide hatten eine hohe Bindungsaffinität an VEGF und reduzierten VEGF im Überstand von ARPE19 Zellen. Im primären RPE war dagegen nur Fucoide von *Saccharina latissima* effektiv. Weitere Untersuchungen zu Fucoide von *Saccharina latissima* sind daher von großem Interesse.

Comparison of Fucoide from Baltic seaweed *Fucus vesiculosus*, *Fucus evanescens*, *Fucus serratus*, *Laminaria digitata* and *Saccharina latissima*, on oxidative stress protection and VEGF secretion of ocular cells

Philipp Dörschmann¹, Kaya Saskia Bittkau², Sandesh Neupane², Johann Roider¹, Susanne Alban², Alexa Klettner¹

¹ University of Kiel, University Medical Center, Department of Ophthalmology

² University of Kiel, Pharmaceutical Institute, Department of Pharmaceutical Biology

Abstract

Background: Fucoide are interesting substances for potential usage in ophthalmology, especially in age-related macular degeneration. However, fucoide from different species may largely vary in their effects. In this study, we compare fucoide extracted from five different algal species concerning oxidative stress protection, binding affinity to VEGF and VEGF secretion in ocular cells.

Methods: Brown algae (*Fucus vesiculosus*, *Fucus evanescens*, *Fucus serratus*, *Laminaria digitata*, and *Saccharina latissima*) were harvested and fucoide were isolated by hot-water extraction after defatting. The obtained fucoide were tested in concentrations of 1, 10, 50 and 100 µg/ml. Effects were measured on uveal melanoma cell line (OMM-1) (oxidative stress protection), RPE cell line

ARPE19 (oxidative stress protection and VEGF secretion) and on primary RPE cells (VEGF - secretion). Oxidative stress was induced by H₂O₂ or tert-butylhydroperoxide (tBH). Cell viability was investigated with an MTT assay and VEGF secretion was measured in ELISA. The affinity to VEGF was determined by means of a competitive binding assay.

Results: All five fucoidans significantly protected uveal melanoma cell line OMM-1 from oxidative stress-induced toxicity. However, when using the RPE cell line ARPE19, only the fucoidan from *Saccharina latissima* was significantly protective. When VEGF secretion was investigated in ARPE19 cell line, fucoidans from all species displayed a significant reduction of VEGF. In primary RPE cells, again only the fucoidan from *Saccharina latissima* displayed a significant reductive effect. The affinity to VEGF of all five fucoidans was significantly stronger than that of heparin. In contrast to the cell assays, the fucoidan from *Saccharina latissima* showed, however, some weaker binding than those from *Fucus evanesens* and *Fucus serratus*.

Conclusion: Among the fucoidans from five different species, only that from *Saccharina latissima* is displaying the most promising results concerning oxidative stress protection and reduction of VEGF secretion. Its binding to VEGF suggests an additional beneficial effect on the pathophysiology of AMD