VII CONGRESO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN VISIÓN Y OFTALMOLOGÍA

19 y 20 de Noviembre de 2010

Salón de Conferencias "Río Cuarto",

Hotel Holiday Inn.

Estación Rodríguez del Busto.

Ciudad de Córdoba.

Organizado por la

ASOCIACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN VISIÓN Y OFTALMOLOGÍA

ARVO International Chapter

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

Comisión Directiva

Presidente:	Dr. Mario E. Guido
Vicepresidente:	Dr. Juan Gallo
Secretario:	Dra. Nora Rotstein
Tesorero:	Dra. María Cecilia Sánchez
Secretario de Relaciones Institucionales:	Dr. José Luna Pinto
Vocales Titulares:	Dr. Martín Berra
	Dr. Rodrigo Torres
	Dra. Ana Laura Gramajo
	Dra. María Ana Contín
Vocales Suplentes:	Dr. Ignacio Ferrari
	Dr. Pablo Sande
	Dr. Gustavo Zapata
	Dra. Florencia Lanzani.

Comité Organizador Local

Dr. Mario Guido
Dr. José Luna Pinto
Dra. María Cecilia Sánchez
Dra. Ágata Carpentieri
Dra. María Ana Contín

Diseño de tapa: Lic. Daniela Verra

AUSPICIOS

ARVO
The Association for Research in Vision and Ophthalmology
Promoting Sight-Saving Research Globally

AGENCIA
NACIONAL DE PROMOCION
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA

CONICET
BICENTENARIO
1810~2010

UNC
SECyT
Secretaría de Ciencia y Tecnología
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA

GOBIERNO DE LA
PROVINCIA DE
CORDOBA

Córdoba
Entre todos

Ministerio de
CIENCIA Y
TECNOLOGÍA

ALLERGAN

Conferencistas Invitados

Peter Anthony Campochiaro, M.D.
Johns Hopkins Hospital School of Medicine,The Wilmer Eye Institute, Baltimore, USA

El Doctor Peter Anthony Campochiaro obtuvo su título de medicina en Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD. Su residencia en oftalmología la realizó en la Universidad de Virginia, Charlottesville, VA, para terminar su formación en retina en el Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins Hospital. Actualmente se desempeña como Catedrático de Oftalmología y Neurociencias en la Facultad de Medicina de Johns Hopkins. Ha recibido numerosos nombramientos y honores; entre los más importantes están: George S. and Dolores Doré Eccles Endowed Professorship, Steinbach Award y Rosenthal Award from the Macula Society, Research to Prevent Blindness Senior Scientist Award. Su principal área de investigación se focaliza en descubrir los distintos procesos fisiopatológicos de la neovascularización retinal y coroidea así como la inhibición terapéutica en diferentes etapas de la misma. Además ha desarrollado nuevas terapias génicas para enfermedades degenerativas retinales como la retinitis pigmentosa y en la parte clínica se encuentra dirigiendo ensayos clínicos para Edema Macular en diabetes (READ-2 study).
Estos estudios han dado lugar a más de 280 trabajos originales en prestigiosas revistas internacionales en los últimos años.

Dora Selma Fix Ventura

Universidade de São Paulo
Departamento de Psicologia Experimental
Instituto de Psicologia
São Paulo - Brasil

La Doctora Dora S. Fix Ventura es Profesora Titular emérita e investigador Senior del Departamento de Psicología Experimental del Instituto de Psicología de la Universidad de São Paulo (USP), Brasil. Obtuvo su Licenciatura en Psicología en la Facultad de Filosofía, Ciencias y Letras de la USP y luego la Maestría y posterior Doctorado en la Universidad de Columbia, NY, EEUU. Fue vice-directora y Jefe del Departamento de Psicología Experimental en dos oportunidades del Instituto de Psicología de la USP. Fue Vice-presidente de la Sociedad Brasilera para el Progreso de la Ciencia y presidente de la Federación de Sociedades de Biología Experimental y de la Sociedad Brasilera de Neurociencias y Comportamiento y de la Asociación de Visión y Oftalmología de Brasil.
Ha sido miembro de comités académicos de la Universidad de Sao Paulo y de la Comisión Técnica Nacional de Bioseguridad, Consejo Deliberativo del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico y del Comité Asesor de Psicologia del CNPq y del Latin American Research Committee (LARC) de la International Brain Research Association (IBRO). Es miembro titular de la Academy of Sciences for the Developing World (TWAS) y de la Academia Brasilera de Ciencias (ABC). Ha recibido varias distinciones y premios como el Cruz Grande (Grã Cruz) – Orden Nacional del Mérito Científico y la Medalla CAPES 50 aniversario. Fundó en 1968 **el Laboratorio de Psicofisiología Sensorial**, en el Instituto de Psicología de la USP para estudiar mecanismos neuronales de la visión, a través de métodos conductuales y electrofisiológicos. A mediados de los 90 fundó el **Laboratorio de Visión**, un área de la investigación aplicada en Psicofísica y Electrofisiología Visual Clínica para el estudio de enfermedades neurodegenerativas del sistema visual- en el cual desarrolla activa colaboración nacional e internacional. Ha formado hasta el presente 33 magisters y 19 doctores, y ha publicado numerosos artículos científicos en prestigiosas revistas internacionales del área de visión.

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

VII CONGRESO

19 y 20 de Noviembre de 2010

PROGRAMA

Viernes 19 de noviembre de 2010

09:00 hs Acreditación

10:00 hs Apertura

10:05-12:45 hs **MODULO I: RETINA EXPERIMENTAL I**

Coordinadores: Agata Carpentieri y Ana Laura Gramajo

10:00 El sistema alfa 2 macroglobulina (α2-M)/LRP1 induce la expresión de la proteína ácida fibrilar glial mediante la activación de STAT3.
Barcelona PF; Ortiz SG; Chiabrando GA; Sánchez MC.

10:10 Efecto del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) en células gliales de Müller.
Lorenc VE, Ortiz SG, Chiabrando GA, Sánchez MC.

10:20 Muerte de células fotorreceptoras por exposición a la luz a baja intensidad.
Claudio Bussi, Daniela Verra , Mario E. Guido and Maria A Contín.

10:30 Melanopsin X undergoes a radical temporo-spatial switch in cellular expression during chick retinal development.
Verra DM, Contin MA, Hicks D, Guido ME

10:40 El receptor acoplado a proteína g del epitelio pigmentario retinal (RGR) se localiza en la capa de células ganglionares de la retina de pollo.
Díaz N.M, Valdez D.J, Guido M.E

10:50 Relación entre la luz/dopamina sobre la actividad de la enzima n-acetilserotonina de la retina de pollo.
Valdez D. J., Díaz N. M., Guido M. E.

11:00 Pulsos breves de isquemia protegen la retina del daño glaucomatoso
Belforte N, Sande P, Chianelli M, Rosenstein R.

11:15-11:30 Coffee break

11:30-13:00 hs **MODULO II: INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Coordinadores: Nora Rotstein y Julio Urrets Zavalía

11:30 Estudio de la actividad circadiana en pacientes con glaucoma avanzado.
Florencia Lanzani, Nuria de Zavalía, Héctor Fontana, Mariana Palese, Ruth E. Rosenstein.

11:40 Envejecimiento & alteraciones visuales en conductores.
Torres RM, Lódolo PG, Falcione F, Tell A, Guarnieri F.

11:50 Automedicación oftalmológica en dos ciudades sudamericanas.
Marquez GE, Sanchez VML, Torres VE; Gramajo AL, Zelaya N; Peña FY, Juarez CP; Luna JD.

12:00 Microdosis de ranibizumab en el edema macular diabético estudio piloto (MINIMA-1)
García LG, Fiocca Vernengo L, Roig E, Altamirano JC, Juarez CP, Gramajo AL, Luna JD, Santos A.

12:10 Potential rol of melatonin in the treatment of central serous chorioretinopathy (CSCR)

Gramajo AL, Rosenstein RE, Libas A, Juárez CP, Luna JD

12:20 Hacia una mejor detección de retinopatía del prematuro en la Argentina.
Crim N, Knoll EG, Crespo MG, Fornies Paz ME, Monti R, Serra HM, Urrets Zavalía JA.

12:30 Estudio oftalmológico PROVIM: estudio epidemiológico de enfermedades oculares, diabetes e hipertensión arterial en Córdoba.
Espejo JV, Méndez Nicolia GA, Luna JD, Torres VE, Gramajo AL, Juarez, CP, Artal MN, Yadarola MB, Lerner FS, Iribarren R,

12:40 Detección de queratocono subclínico mediante evaluación biomecánica corneal con ocular response analyzer.
Galletti JG, Pförtner T, Fuentes Bonthoux F.

12:50 Efecto de destellos periódicos sobre el tamaño pupilar.
Silva, B., Issolio, L. Colombo, E.

13:00-14:30 hs Lunch

14:30-15:30 hs **Conferencia ARVO. "Mechanism of Cone Cell Death in Retinitis Pigmentosa".** Dr. Peter Campochiaro. Wilmer Eye Institute, Department of Ophthalmology and Neuroscience, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, EEUU.

15:30-16:45 hs **MÓDULO III: CÓRNEA**

Coordinadores: Pablo Sande y Juan Gallo

15:30 Rol del acido ascórbico en la queratopatía climática.
Forniés Paz ME, Crespo MG, Cafaro T, Crim N, Monti R, Serra HM,Urrets Zavalía JA.

15:40 Rol de la onda rápida de calcio en la cicatrización de heridas en endotelio de córnea en cultivo.
Justet C, Hernández JA, Chifflet S.

15:50 Interleucina 1 Beta, MMPS y TIMP-1 en Queratopatía Climática.

Cafaro Thamara A, Suarez Maria Fernanda, Santo Stefanía, Urrets-Zavalía Julio A, Serra Horacio M.

16:00 Suramab, un novedoso agente antiangiogénico, reduce la neovascularización corneal y el crecimiento de tumores.
Lopez, Emiliano S.; Rizzo, Manglio M.; Mazzolini, Guillermo; Gallo, Juan E.

16:10 Evaluación del efecto terapéutico de la administración tópica de SLPI y FP-MC, inhibidores del factor nuclear KB, en el tratamiento de la lesión corneal por álcalis en ratas. 7 días de tratamiento.
Salica, JP; Chuluyan E, Guerrieri D, Maffia P, Rodriguez, AR, Gallo JE

16:20-17:00 hs Coffee break

17:30-19:00 hs **Asamblea**

Sábado 20 de Noviembre 2010

09:00-10:30 hs **MÓDULO IV: RETINA EXPERIMENTAL II**

Coordinadores: Ángela Suburo y Diego Valdez

9:00 La esfingosina-1-fosfato estimula la proliferación y migración de las células gliales de Müller.
Abrahan CE, Navallas SJ, Politi LE, Rotstein NP.

9:10 Mifepristona induce la muerte de fotorreceptores normales.
Cubilla MA, Castañeda MM, Bachor TP, Luzzani GA, Suburo AM.

9:20 Estrés oxidativo y cambios estructurales en la retina de ratas en desarrollo, expuestas a hiperoxia y tratadas con taurina.
Rojas, Luz Marina.

9:30 Estimulación monocromática y neuroplasticidad retiniana
Fosser NS, Ríos H

9:40 Un ácido graso omega-3 promueve la supervivencia de los fotorreceptores activando un receptor para retinoideos.
Germán L, Mónaco S, Agnolazza D, Rotstein N y Politi L.

9:50 Presencia de diacilglicerol kinasa dzeta (DAGKζ) en núcleos de la retina de vertebrados.
Natalini P, Zulian S, Giusto N e Ilincheta de Boschero M.

10:00 RGC-5 cells as non-visual photoreceptors and circadian oscillators.
Nieto PS, Valdez DJ, Acosta-Rodríguez VA and Guido ME

10:10 Detección de aumento de nitrotirosina asociada al daño oxidativo en la retina luego de iluminación continua.
J. Sánchez de Bustamante, N. Manta Llopart, M. Soliño, EM. López, y JJ. López-Costa.

10:20 Las células gliales de Müller permiten conservar neuroblastos luego de varios pasajes e inducen su diferenciacion en fotorreceptores funcionales.
Simón MV, De Genaro P, de los Santos B, Rotstein N, Politi L.

10:30-11:00 hs **Coffee break**.

11:00-12:00 hs **Conferencia AIVO. "Visual impairment due to systemic diseases".** Dra. Dora Fix Ventura. Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia y Núcleo de Neurociências e Comportamento, Universidad de San Pablo, San Pablo, Brasil.

12:00- 13:00 hs **MÓDULO V: MODELOS EXPERIMENTALES**
Coordinadores: Pablo Barcelona y Paula Nieto

12:00 Alteraciones tempranas de la vía visual en la retinopatía diabética experimental.
Bordone M, Fernandez DC, Dorfman D, Rosenstein RE.

12:10 Inflamación crónica en retinopatía diabética en un modelo de diabetes tipo 2 alimentado con una dieta alta en grasa
Mancini JE, Basabe JC, Croxatto JO, Gallo JE.

12:20 Desarrollo de un modelo experimental de retinopatía diabética tipo 2
Salido EM, Arias P, Rosenstein R.

12:30 Evaluación in vivo de films bioadhesivos para administración oftálmica de fármacos.
Tártara I, Llabot J, Allemandi D, Palma S.

12:40-14:30 hs **MESA REDONDA**
Coordinadores: José Luna Pinto y Juan Gallo

I- Modelos animales en Retinopatía Diabética. Del Laboratorio a la Clínica.
II- Desarrollo de patentes en Argentina: ¿oportunidad o utopía?

14:30 hs **Lunch de Despedida auspiciado por ALLERGAN en "Industria Nacional. Complejo Dinosaurio"**

EL SISTEMA ALFA 2 MACROGLOBULINA (A_2-M)/LRP1 INDUCE LA EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA ÁCIDA FIBRILAR GLIAL MEDIANTE LA ACTIVACIÓN DE STAT3.

Alpha2-Macroglobulin/LRP1 system induces glial fibrillary acidic protein expression by activation of STAT3.

Barcelona PF; Ortiz SG; Chiabrando GA; Sánchez MC.
CIBICI (CONICET) - Depto. de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC.
pbarcelona@mail.fcq.unc.edu.ar

Objetivos: La proteína ácida fibrilar glial (del inglés, GFAP) constituye el principal Filamento Intermedio (FI) de las células gliales de Müller (CM), y su expresión es un indicador de ‘‘stress’’ en la retina durante desórdenes isquémicos proliferativos. Previamente demostramos una incrementada expresión de α_2M en humor vítreo de pacientes con retinopatía diabética proliferativa así como en retinas de ratas con neovascularización inducida por hipoxia. En este modelo animal el receptor de α_2M, LRP1, mostró niveles elevados de expresión en CM. Sin embargo, el rol funcional entre el sistema α_2M/LRP1 y GFAP es al presente poco conocido. Nuestro objetivo fue analizar si el sistema α_2M/LRP1 está involucrado en la activación de las CM, a través de la inducción de GFAP, y evaluar la/s via/s de señalamiento involucrada/s en este proceso.
Materiales y Métodos: Se utilizaron modelos experimentales *in vitro* e *in vivo*, los cuales consistieron en una línea inmortalizada de células gliales retinales, MIO-M1, así como en retinas de ratones que fueron microinyectados a nivel intravitreo con α_2M, respectivamente. El efecto de α_2M sobre la expresión de GFAP fue determinada por ensayos de Western Blot y por microscopía de inmunofluorescencia (IF) en cultivos de células MIO-M1. Para analizar las vías de señalamiento intracelulares, los extractos proteicos de los lisados celulares fueron analizados por Western blot para p-ERK1/2 y p-STAT3. Finalmente, retinas de ratones C57BL/6 que recibieron una inyección intravítrea de 1,07 µg de α_2M fueron analizadas por IF para GFAP y p-STAT3 a 1, 3 y 6 días post inyección.
Resultados: La interacción α_2M/LRP1 indujo la expresión de GFAP y la fosforilación de STAT3 en la línea celular MIO-M1. RAP, un inhibidor de la unión α_2M/LRP1, disminuyó significativamente el efecto de α_2M sobre el nivel de expresión de GFAP y de fosforilación de STAT3. Sin embargo, vimentina, otro FI, mostró una expresión uniforme. Posterior a la inyección intravítrea con α_2M (3 y 6 días) se observó un incremento progresivo de la expresión de GFAP en áreas de la retina coincidentes con la localización de CM. Bajo el mismo esquema experimental α_2M produjo un aumento en los niveles de p-STAT3 en la LCG y en la LNI posterior a los 3 días de tratamiento.
Conclusiones: Demostramos que el sistema α_2M/LRP1 promueve a nivel de CM, una expresión diferencial de GFAP respecto a otros FI. Considerando que α_2M/LRP1 indujo la activación de JAK/STAT, estos resultados sugieren que esta vía de transducción de señales estaría involucrada en la expresión de GFAP.

EFECTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO INSULÍNICO TIPO 1 (IGF-1) EN CÉLULAS GLIALES DE MÜLLER.

Effect of Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) on glial Müller cells.

Lorenc VE, Ortiz SG, Chiabrando GA, Sánchez MC.

CIBICI (CONICET)-Dpto de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. vlorenc@fcq.unc.edu.ar.

Objetivos: Tanto IGF-1 como su receptor (IGF-1R) presentan modificaciones en la expresión y localización tisular durante patologías retínales como la Retinopatía de la Prematurez (ROP) y la Retinopatía Diabética Proliferativa (RDP). Además, se conoce que las células de Müller (CM), principales células gliales de la retina, cumplen un rol crucial en estas enfermedades al producir el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y secretar metaloproteinasas. Previamente hemos demostrado que IGF-1 regula la capacidad migratoria de células gliales de Müller (MIO-M1) en un mecanismo que involucra la activación de MMP-2. En este trabajo investigamos si CM expresan IGF-1R con el propósito de indagar la activación de señales de transducción inducidas por IGF-1.

Materiales y métodos. Para analizar la expresión de IGF-1R en células MIO-M1, las células en cultivo fueron estimuladas con IGF-1 (10nM) por 1, 4 y 8 hs y los lisados celulares analizados por ensayos de Western blot (WB). Bajo el mismo esquema experimental también evaluamos la fosforilación de IGF-1R. Además analizamos la expresión y fosforilación del receptor por microscopia de inmunofluorescencia (IF). Para analizar las vías de señalamiento intracelular, las células en SFB al 0,5% fueron estimuladas con IGF-1 durante diferentes intervalos de tiempo (1 a 20 min) y con distintas concentraciones de IGF-1 (0,1- 10 nM). Luego, los extractos proteicos fueron analizados por WB para ERK1/2 y Akt fosforilado. Con el fin de analizar la especificidad de interacción ligando-receptor, previamente al estimulo, las células fueron preincubadas con un anticuerpo anti IGF-1R (αIR3) durante 30 minutos y los lisados celulares analizados por ensayos WB.

Resultados. Mediante ensayos de WB se observó que IGF-1 (10nM) induce un incremento en la fosforilacion de su receptor (IGF-1R) a 1 y 4 hs, manteniendo uniforme la expresión de IGF-1R, lo cual también fue evidenciado por ensayos de IF. También demostramos que IGF-1 produce en MIO-M1 una activación de MAPK-ERK1/2 y PI3K/Akt a distintas concentraciones (0,1, 1 y 10 nM) y tiempos (1, 5, 10, 15 y 10 min), indicando que estos eventos de transducción de señales están mediados por IGF-1R. αIR3, un inhibidor de la unión de IGF-1/IGF-1R disminuyo significativamente el efecto de IGF-1 sobre la activación de las vías de señalamiento.

Conclusión. Estos resultados demuestran que CM expresan constitutivamente IGF-1R el cual no es modificado en presencia de su ligando. IGF-1 induce una rápida fosforilación de su receptor específico seguido de la activación de las vías de MAPK y PI3K. Estos resultados sugieren que el sistema IGF-1/IGF-1R mediaría los eventos celulares de migración y activación de MMP-2.

MUERTE DE CÉLULAS FOTORRECEPTORAS POR EXPOSICIÓN A LA LUZ A BAJA INTENSIDAD

Photoreceptor cell death in low light retinal exposure

Claudio Bussi, Daniela Verra , Mario E. Guido and Maria A Contín

CIQUIBIC (CONICET) – Dpto Qca Biol, Fac Cs Químicas, UNC-Córdoba;

mcontin@mail.fcq.unc.edu.ar

Retinal degenerations, including Retinitis Pigmentosa (RP) and vitamin A deficiencies, exhibit progressive death of rod and cone photoreceptors with subsequent loss of vision. Typical symptoms are night blindness, decreases in visual field and eventually blindness. In some types of RP as well as vitamin A deficiencies, photoreceptor death is due to constitutive activation of the phototransduction pathway, but the biochemical events underlying apoptosis are presently unknown. To answer this question, we are studying the molecular mechanisms involved in retinal degeneration in *Wistar* rats kept in moderate light (200 lux) to activate phototransduction for different periods of time. Our results showed a significant reduction in outer nuclear layer (ONL) thickness in rat retinas after ten days of continuous light exposure. Western blots detected the active form of caspase 3, and in preliminary results we observed degradation of rhodopsin and melanopsin, during the first five days of exposure. These results indicate that continuous activation of the phototransduction cascade initiates photoreceptor apoptosis within five days of light exposure, and involves a caspase 3-dependent mechanism which leads to measurable cell loss after ten days.

MELANOPSIN X UNDERGOES A RADICAL TEMPORO-SPATIAL SWITCH IN CELLULAR EXPRESSION DURING CHICK RETINAL DEVELOPMENT

Melanopsina x sufre un cambio temporo-espacial radical en su expresión celular durante el desarrollo de la retina de pollo

Verra DM[1], Contin MA[1], Hicks D[2], Guido ME[1]

[1]Dept. of Biol. Chem.- CIQUIBIC, UNC, Córdoba, Argentina; [2]INCI-CNRS, Strasbourg, France.
E-mail: daniela.verra@gmail.com

Purpose: Two orthologs of melanopsin (Opn4) have been identified, Opn4m and Opn4x. We examined expression patterns of photodetection molecules in chicken retina, to define potential roles for both genes.
Methods: Retinas from embryonic (E) day 4 to 19 or post-hatch day 7 (P7) chicks were used for western blotting (WB) or RT-PCR. WB used anti-Opn4m/x antibodies, and RT-PCR was done for the transcription factors *Pax6, Brn3 and CRX*, the G transducin proteins *Gq* and *α–transducin*, and opsins *Opn4m, Opn4x, rhodopsin* and *red opsin*. Immunohistochemistry was done on E8-19 and P7 retina using Opn4m/x and cell-specific antibodies.
Results: We observed two waves of transcription, one at E4 with expression of Pax6, Brn3, Gq, and Opn4m; the second at E7-12 with CRX, α–transducin, rhodopsin and red opsin. Strikingly, Opn4x did not appear till E8. WB confirmed mRNA data for Opn4m and x. Immunolocalization of Opn4m and x showed that Opn4m was restricted to the RGC layer at all ages. In stark contrast, at E8 Opn4x was also limited to the RGC layer, but by E15 its expression was mainly confined to cells in outer retina, presumably horizontal cells.
Conclusions: The initial wave of expression could confer early photosensitivity to RGC. Opn4x switches expression to horizontal cells, which play roles in receptive field construction. The data suggest the existence of a new type of photosensitive retinal cell.

EL RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNA G DEL EPITELIO PIGMENTARIO RETINAL (RGR) SE LOCALIZA EN LA CAPA DE CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA DE POLLO.

The G protein-coupled receptor retinal pigment epithelium (RGR) is located in the layer of the retina ganglion cells of chicken.

Díaz N.M, Valdez D.J, Guido M.E

CIQUIBIC-Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba-CONICET, 5000 Córdoba, Argentina.

*Email: ndiaz@fcq.unc.edu.ar

La absorción de un fotón por un pigmento visual induce la isomerización del cromóforo 11-cis-retinal (RAL) a all-trans-RAL. Ya que una opsina en la ausencia de 11-cis-RAL pierde su sensibilidad a la luz, la visión sostenida requiere una regeneración continua de 11-cis-RAL por medio de un proceso llamado ciclo visual. Una su población de células ganglionares retínales (RGCs) que expresan el fotopigmento melanopsina han demostrado se intrínsecamente fotosensibles (ipRGCs) y son responsable de la regulación de diversas funciones fótica no visuales, tales como reflejos de luz la pupila, la sincronización de los ritmos de actividad, etc. Hasta la fecha muy poco es sabido a cerca de como hacen estas ipRGCs para regenerar el cromóforo necesario para la detección de la luz. El Receptor acoplado a proteína G del Epitelio Pigmentario Retinal (RGR) es una proteína de 32 kDa expresada en membranas internas del Epitelio Pigmentario Retinal (RPE) y células gliales de Müller. En ojos adaptados a la oscuridad, el cromóforo que predominantemente se une a RGR es all-trans-RAL. La opsina RGR podría proveer una modulación luz dependiente de la síntesis y degradación de los all-trans-retinil esteres. Estos esteres son el sustrato de la isomerasa RPE65, la cual cataliza el paso crítico de la reacción de isomerización desde all-trans retinoides hasta 11-cis.

En el presente trabajo investigamos le presencia y la expresión de RGR en las RGCs y la retina interna de pollos normales (WT) y GUCY1*, un modelo animal de ceguera carente de células fotorreceptoras funcionales en los cuales persiste la respuesta fótica asociada a funciones no visuales.

Encontramos niveles detectables del mRNA de RGR por RT-PCR y su proteína en retinas de pollos WT y GUCY1* tanto como en preparaciones enriquecidas en células ganglionares. Por inmunofluorescencia, observamos marca positiva para RGR localizada en la capa de RGC.

RELACIÓN ENTRE LA LUZ/DOPAMINA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA N- ACETILSEROTONINA DE LA RETINA DE POLLO.

The Light/Dopamine Relationship on the Chicken Retinal Enzyme N-Acetylserotonin Activity

Valdez D. J., Díaz N. M., Guido M. E.

Dpto. Química Biológica, CIQUIBIC-CONICET, Fac. Cs. Químicas, Univ. Nac. de Córdoba, Córdoba.
diego@fcq.unc.edu.ar

Circadian physiology in the vertebrate retina is regulated by light and diverse signals such as melatonin and dopamine (DA), which act as mutually inhibitory factors. We previously described that chicken retinal ganglion cells (RGCs) contain circadian oscillators synthesizing melatonin with higher levels during the day in antiphase to the nocturnal photoreceptor cell (PRC) rhythm. Here, we investigated the effect of DA on the activity of the melatonin synthesizing enzyme N-Acetylserotonin (AA-NAT) in PRC and RGC preparations.
Animals were kept under a 12:12 h light-dark cycle (LD) for 7 days, released to constant darkness (DD) for 24 h and then exposed to light pulses of different durations (30-90 min) during the subjective day (circadian time: CT 3) or night (CT 17.5), or injected with DA (50 nmol/eye) in one eye and vehicle in the other (contralateral eye) at CT 17.5 in DD.
A light pulse of 30-60 min at CT 3 or CT 17.5 caused a significant decrease in AA-NAT activity of PRCs while it has no effect on RGC enzyme activity. Likewise the DA treatment in the absence of light significantly inhibited AA-NAT activity in PRCs but not in RGCs.
The results strongly suggest that in the chicken retina DA mimics the effect of light on AA-NAT activity on PRCs however, light and DA has no effect on RGCs implicating that responses seen in these cells are mostly driven by the circadian clock.

PULSOS BREVES DE ISQUEMIA PROTEGEN LA RETINA DEL DAÑO GLAUCOMATOSO

Brief pulses of ischemia protect the retina from glaucomatous damage

Belforte N, Sande P, Chianelli M, Rosenstein R.
Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, CEFyBO, CONICET, Buenos Aires, Argentina
nicolasbelforte@hotmail.com

Diversas evidencias avalan que la isquemia forma parte de los mecanismos etiopatogénicos del daño glaucomatoso. Aunque no existe un tratamiento eficaz contra el daño isquémico, es posible activar mecanismos de protección endógena (tolerancia isquémica) por inducción de precondicionamiento o postcondicionamiento isquémico. En este trabajo se examinó el efecto de una aplicación semanal de pulsos breves de isquemia sobre las alteraciones provocadas por glaucoma experimental inducido por inyecciones de condroitín sulfato (CS) en la cámara anterior. Para ello, se realizaron inyecciones semanales bilaterales de vehículo o CS. La isquemia se indujo por aumento de la PIO a 120 mmHg durante 5 min en un ojo, comenzando a las 6 semanas de tratamiento con vehículo o CS, y continuando en forma semanal. El ojo contralateral fue sometido a un procedimiento simulado. A las 10 semanas de tratamiento, se determinó la PIO y se registraron electrorretinogramas (ERGs) y potenciales visuales evocados (VEPs) La morfología retiniana se examinó por microscopía óptica e inmunohistoquímica (con un anticuerpo anti-NeuN). Se evaluó la peroxidación lipídica retinia (a través de la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico).

La inducción de tolerancia isquémica no afectó la hipertensión ocular inducida por CS, pero revirtió el efecto de la hipertensión ocular sobre la función retiniana (amplitud de las onda a- y b- del ERG) y la vía visual (amplitud de la onda N2-P2 del VEPs). Asimismo, se observó una preservación significativa en el número de células positivas para NeuN en la retina de los ojos hipertensos expuestos a pulsos de isquemia. El aumento de la peroxidación lipídica en la retina de ojos hipertensos disminuyó significativamente por la aplicación de pulsos de isquemia.

Estos resultados indican que la inducción de la tolerancia isquémica podría constituir una avenida fértil para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en el tratamiento del glaucoma.

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD CIRCADIANA EN PACIENTES CON GLAUCOMA AVANZADO

Study of circadian activity in patients with advanced glaucoma

Florencia Lanzani, Nuria de Zavalía, Héctor Fontana, Mariana Palese, Ruth E. Rosenstein

Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímic Humana. Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. E. De Robertis," Facultad de Medicina, UBA, CEFyBO-CONICET

El objetivo de este trabajo fue evaluar a través de un estudio prospectivo y observacional, la fisiología circadiana en pacientes con glaucoma avanzado. Todos los participantes (6 controles y 7 pacientes con glaucoma bilateral) dieron consentimiento informado por escrito. Se seleccionaron pacientes sin enfermedades neurológicas ni motora, de 55 a 80 años de edad, con diagnóstico de glaucoma de ángulo abierto bilateral de más de 10 años de evolución, un disco óptico con gran deterioro de la relación copa disco y un daño avanzado del campo visual. Los análisis de los campos visuales se realizaron con un equipo Humphrey Field Analyzer II 750 y un programa central 24-2. Se consideró daño avanzado cuando el patrón de desviación estándar estaba fuera del 95% del límite de normalidad, con una prueba del hemicampo para glaucoma también fuera de límites normales. Sólo se incluyeron campos visuales confiables (pérdidas de fijación, falsos positivos y falsos negativos menos del 25%). Se incluyeron pacientes fáquicos y pseudofáquicos. Para la clasificación de catarata se utilizó el sistema de clasificación de opacidades de los lentes III. Como grupo control, se reclutaron pacientes de la misma edad sin patología ocular, a los que se les realizó la misma evaluación oftalmológica y exámenes complementarios. Cada paciente completó formularios de calidad del sueño y luego se les colocó un actígrafo (símil reloj pulsera) en la muñeca del brazo no dominante durante 20 días.

Resultados: La eficiencia del sueño y la media de episodios de vigilia fueron significativamente mayores en el grupo control ($p<0.01$, y $p<0.05$, respectivamente), en tanto que los minutos de vigilia durante el intervalo del sueño fueron mayores en el grupo de pacientes con glaucoma ($p<0.01$). Estos resultados, aún en estado preliminar, sugieren alteraciones circadianas, particularmente en los ciclos de sueño-vigilia en pacientes con glaucoma avanzado.

ENVEJECIMIENTO & ALTERACIONES VISUALES EN CONDUCTORES

Ageing & vision problems in drivers

Torres RM[1,2], Lódolo PG[1,2], Falcione F[1,2], Tell A[1,2], Guarnieri F[3]
1- Centro de Ojos Dr. Lódolo. 2: Asociación Entrerriana de Oftalmología (AEO), Paraná. Entre Ríos. 3- Fac. Ing. UNER, Oro Verde, Entre Ríos.
E-mail: romator7@hotmail.com

Introducción: con el envejecimiento disminuyen de los sentidos, incluyendo las funciones visuales, indispensables para conducir.

Objetivos: evaluar y describir características de la visión en conductores de diferentes edades.

Metodologia: estudio observacional, retrospectivo Se evaluaron 18520 planillas de "Aptitud Visual" de personas que obtuvieron o renovaron su registro de conducir, desde marzo del 2003 a marzo del 2006. Cada planilla contenía: 1-antecedentes clínicos y oculares (obtenidos por anamnésis); 2. Control de agudeza visual (con/sin corrección); 3-Detección de cataratas; 4-Detección de hipertensión ocular (HTO). El porcentaje de cada ítem fue evaluado y los datos fueron segmentados en 3 grupos etáreos: A: 18-39 años; B: 40-64 años; C: ≥ 65 años.

Resultados: Distribución de la población por edades: A-46,49%; B-38,36% and C-14,88%. Antecedentes clínicos/oculares. Hipertensión arterial (HTA): A: 2,96%; B: 26,14%; C: 70,88%. Diabetes (DBTs): A: 0,95%; B: 9,40%; C: 89,63%. Retinopatía diabética: A: 0%; B: 18,75%; C: 81,25%. Corrección óptica para conducir: utilizan anteojos: A: 14,27%; B: 31,79%; C: 53,93%. Lentes de contacto: A: 62,61%; B: 37,38%; C: 0%. NO necesita corrección: A: 55,91%; B: 40,20%; C: 3,88%. Detección de cataratas: A: 3,16%; B: 32,35%; C: 64,47%. Detección de HTO: A: 2,91%; B: 34,54%; C: 62,54%.

Discusión: tanto las alteraciones clínicas (HTA y DBTs) como oculares (cataratas e HTO) fueron más prevalentes en el grupo C y más de la mitad de las personas de este grupo necesitaron anteojos para conducir. Será necesario evaluar si esto se traduce en mayor posibilidad de sufrir accidentes de tránsito.

AUTOMEDICACIÓN OFTALMOLÓGICA EN DOS CIUDADES SUDAMERICANAS

Ophthalmic self-medication in two sudamericans cities

Marquez GE[1], Sanchez VML[1], Torres VE[2]; Gramajo AL, Zelaya N[1]; Peña FY[3], Juarez CP[1]; Luna JD[1]

[1] Centro Privado de Ojos Romagosa-Fundación VER, Córdoba, Argentina.
[2] CEA-CONICET y Facultad de Ciencias Económicas, UNC, Córdoba, Argentina.
[3] Fundación Oftalmológica del Caribe, Barranquilla, Colombia.
Email:gabriel.e.marquez@gmail.com

Introducción: Numerosas patologías oftalmológicas requieren el uso de medicación tópica, y aún cuando la medicina occidental ha impuesto al médico como el proveedor oficial de estos tratamientos, muchos pacientes con síntomas oculares recurren a la automedicación.
Objetivos: Detectar, caracterizar y comparar los patrones de la automedicación oftalmológica entre las ciudades de Córdoba, Argentina y Barranquilla, Colombia.
Métodos: Estudio analítico transversal de pacientes mayores de 18 años que asistieron a dichos centros oftalmológicos durante agosto y noviembre de 2009. Datos obtenidos a través de una encuesta semiestructurada en forma simultánea en ambas instituciones.
Resultados: La muestra incluyó a 570 pacientes, 379 de Córdoba y 191 de Barranquilla. Del total de pacientes, en Córdoba, el 25.6% practicó la automedicación; en Barranquilla este porcentaje fue del 25.7%. El porcentaje de hombres y mujeres automedicados no fue significativamente diferente entre ambas ciudades. La mayor fuente de recomendación en Argentina fue el farmacéutico (28,3%); predominando en Colombia la fuente social (53,1%). Los cordobeses se automedicaron más frecuentemente con la asociación de un vasoconstrictor con un AINE (32%), mientras que los barranquilleros lo hicieron con antibióticos (32,7%). El grupo etáreo que más se automedicó en Córdoba fue el de los individuos entre 31 y 50 años (28,4%); en Barranquilla, esta práctica fue mas frecuente entre los 18 a 31 años (39%). En relación al nivel de instrucción, en Córdoba, el mayor índice de automedicación se evidenció en individuos con estudios universitarios o terciarios completos (33%); en Barraquilla en pacientes que completaron la escuela primaria (36,4%). De los cordobeses, sólo el 3% de los pacientes automedicados reconoció conocer las reacciones adversas de la medicación utilizada, en los colombianos sólo el 2%.
Conclusiones: La automedicación oftalmológica es una práctica frecuente en estas dos poblaciones. Los pacientes frecuentemente intentan tratar condiciones que requieren cuidado oftalmológico mediante la automedicación.

MICRODOSIS DE RANIBIZUMAB EN EL EDEMA MACULAR DIABETICO ESTUDIO PILOTO (MINIMA-1)

Microdoses of ranibizumab in diabetic macular edema pilot study (MINIMA-1)

García LG[1], Fiocca Vernengo L, Roig E[2], Altamirano JC[2], Juarez CP[1], Gramajo AL[1], Luna JD[1], Santos A[2]

[1] Centro Privado de Ojos Romagosa–Fundación VER, Córdoba, Argentina
[2] Centro de Retina Médica y Quirúrgica, S.C., Centro Medico Puerta de Hierro, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México
Email: lu_gar@hotmail.com

Introducción: El edema macular diabético (EMD) es la causa principal de pérdida visual en pacientes con diabetes. El tratamiento de EMD difuso está limitado sólo a inyecciones de sustancias intravítreas entre las que se encuentran los corticoides y los agentes anti-VEGF, entre ellos bevacizumab y ranibizumab, con menores efectos adversos que los primeros. Sin embargo, el elevado costo de estas últimas drogas hace el tratamiento con las mismas poco accesible a las dosis actualmente utilizadas.
Propósito: El objetivo de este estudio es investigar si ranibizumab administrado mediante inyecciones intravítreas de microdosis es seguro y efectivo en el tratamiento del EMD.
Métodos: 10 pacientes entre 18 y 75 años, con una agudeza visual mejor corregida (BCVA) ≥ 20/40 y ≤20/320, con evidencia clínica y angiográfica de EMD y un espesor foveal central (CMT) ≥ 270 (según tomografía de coherencia óptica (OCT)), que no hubiesen tenido tratamiento previo con ninguna droga inyectada en forma intravítrea o con tratamiento láser en los tres últimos meses, fueron tratados con 0.05mg de ranibizumab en forma mensual por un período de 6 meses. La respuesta al tratamiento se evaluó mediante BCVA, sensibilidad al contraste, retinofluoresceínografia (RFG) y OCT.
Resultados: 10 pacientes completaron los 6 meses de seguimiento.
Ranibizumab en microdosis mensuales mostró una disminución en el CMT y mejoró significativamente la BCVA en dicho lapso de tiempo. Sin embargo, se evidenció una leve caída del número de letras ganadas, conjuntamente con un nuevo engrosamiento en el CMT después del 2do mes de iniciada esta terapéutica. No se constataron efectos adversos relacionados a la droga o su forma de administración en ningún paciente durante el estudio.
Conclusiones: A 6 meses de seguimiento, ranibizumab en dosis mínimas (0.05mg) fue seguro y efectivo en reducir el CMT y mejorar la BCVA en todos los pacientes con EMD enrolados en este estudio.

POTENTIAL ROL OF MELATONIN IN THE TREATMENT OF CENTRAL SEROUS CHORIORETINOPATHY (CSCR)

Rol potencial de la melatonina en el tratamiento de la coriorretinopatía central serosa (crcs).

Gramajo AL[1], Rosenstein RE[2], Libas A[1], Juárez CP[1], Luna JD[1].
[1] Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina.
[2] Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, CEFyBO, Universidad de Buenos Aires, CONICET, Buenos Aires, Argentina
Email: lauragramajo@hotmail.com.

Introducción: Publicaciones recientes avalan el uso de la melatonina como una herramienta potencial en el tratamiento de varias enfermedades oculares que incluyen el glaucoma, la uveítis y la DMRE, debido a sus múltiples propiedades beneficiosas sobre las células fotorreceptoras y del epitelio pigmentario de la retina (RPE) y falta de efectos adversos significativos, inclusive a altas dosis. La Coriorretinopatía central serosa (CRCS) es una enfermedad de la retina, que afecta primariamente al RPE y la visión central.
Propósito: Evaluar la eficacia y seguridad de melatonina en el tratamiento de la CRCS.
Métodos: Ocho pacientes con CRCS crónica/ recurrente fueron tratados con 3mg de melatonina vía oral tres veces al día por un período de 1 mes. Todos los pacientes presentaban una agudeza visual (AV) ≤ 20/40 en el ojo afectado o un escotoma discapacitante. La edad promedio de los pacientes fue de 40.5 años (rango 36-44), siendo la proporción mujer/ hombre 2/6. Ninguno de los pacientes fue tratado previamente con sustancias anti-VEGF o láser. Se realizó tomografía de coherencia óptica (OCT) antes de comenzar tratamiento y a las semanas 1 y 4.
Resultados: Luego de 1 mes de tratamiento, la AV mejoró en el 100% de los pacientes tratados con melatonina, y 7 de los 8 pacientes mostraron una reducción promedio en el espesor foveal central (CMT) del 38.5%, cuando se los comparó con el espesor de base, mientras que el paciente restante continuó estable. No se observaron efectos adversos significativos. No se evidenciaron cambios en la AV o CMT en los pacientes del grupo control (n=5).
Conclusiones: Estos resultados sugieren que melatonina es segura, efectiva y bien tolerada, y que mejora en forma significativa la AV y CMT en pacientes con CRCS. Sin embargo, una evaluación con un mayor tiempo de seguimiento y una población más amplia sería deseable.

HACIA UNA MEJOR DETECCIÓN DE RETINOPATÍA DEL PREMATURO EN LA ARGENTINA

Widening criteria for screening of retinopathy of prematurity in argentina

Crim N[1], Knoll EG[1], Crespo MG[1], Fornies Paz ME[1], Monti R[1], Serra HM[2], Urrets Zavalía JA[1]

[1] Centro de la Visión Urrets Zavalía, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Universidad Católica de Córdoba, Argentina.

[2] CIBICI-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

E-mail: nicolascrim@hotmail.com

Introducción: La retinopatía del prematuro (ROP) es la principal causa de ceguera infantil en la Argentina y en otros países de América Latina, Europa del Este y sudeste asiático, en los que aún se observan numerosos casos inusuales para ROP según los estándares de los países desarrollados.

Objetivo: Analizar la prevalencia de ROP en niños inusuales en un hospital neonatal público de Córdoba y desarrollar criterios de pesquisa de ROP para nuestro medio y la Argentina.

Metodología: Se analizaron los datos de niños examinados en la unidad cuidados intensivos neonatal (UCIN) del Hospital Materno Neonatal Ramón Carrillo, Córdoba, Argentina, entre Enero 2003 y Diciembre 2006. El examen oftalmológico realizado mediante oftalmoscopía binocular indirecta y lupa de +20 D. El primer examen se realizó entre la 3ra y 6ta semana de vida.

Resultados: Se examinaron 1532 pacientes, detectándose 344 (22.5%) niños con ROP, siendo mas prevalente en niños de ≤1500 g de peso al nacer (PN) o ≤32 semanas de edad gestacional (EG) (62.5%), que en niños por encima de esos parámetros (37.5%). ROP severa fue detectada en el 19% del total, significando el 15% de los niños con parámetros usuales para ROP, y el 4% para niños con parámetros inusuales. El 16% de las ROP requirió tratamiento con laser, 3.5% de la población total estudiada. El 48% de las indicaciones de tratamiento se realizó en los controles ulteriores por consultorio externo.

Discusión: Se encontró una prevalencia mayor de ROP comparado con países desarrollados. Estudios realizados en países en vías de desarrollo demuestran presencia de ROP con EG y PN por encima de los parámetros aceptados para la pesquisa de ROP en países desarrollados. El criterio de pesquisa de ROP para nuestro medio y la Argentina debería incluir a niños con EG hasta 37 semanas y/o PN de 2200g.

Investigación clínica

ESTUDIO OFTALMOLOGICO PROVIM: ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE ENFERMEDADES OCULARES, DIABETES E HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN CÓRDOBA

Provim eye study: epidemiological study of eye pathologies, diabetes and hypertension from an argentinian city.

Espejo JV[1], Méndez Nicolia GA[1], Luna JD[1], Torres VE[2], Gramajo AL[1], Juarez, CP[1], Artal MN[1], Yadarola MB[1], Lerner FS[3], Iribarren R[4], Grupo Oftalmológico PROVIM[1-7].

[1] Centro Privado de Ojos Romagosa- Fundación VER, Córdoba, Argentina. [2] CEA-CONICET y Facultad de Ciencias Económicas, UNC, Córdoba, Argentina. [3] Fundación Favaloro, Capital Federal, Argentina.[4] San Luis Medical Center, San Martín de Tours, Buenos Aires, Argentina.[5] Departamento de Patología Experimental, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.[6] Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina.[7] Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. Email: jimenaespejo66@hotmail.com

Introducción: La discapacidad visual es un problema de salud mundial. Los estudios poblacionales son útiles para valorar la frecuencia y causas más importantes de impedimento visual y para realizar mediante estos programas de rehabilitación y tratamiento.

Propósito: Describir la prevalencia, características y severidad de las causas mas comunes de pérdida visual (catarata, retinopatía diabética, glaucoma y DMRE) en la población de Villa María y su relación con factores sistémicos, sociales, nutricionales y bioquímicos.

Métodos: Estudio poblacional, de sección cruzada, randomizado de individuos > de 44 años de edad y < de 85 años de la ciudad de Villa María, localidad de Córdoba, Argentina. Los participantes fueron sometidos a medición de agudeza visual, refracción, tonometría, examen con lámpara de hendidura y oftalmoscopía indirecta, además de una entrevista acerca de las características demográficas y socioeconómicas; una entrevista y examen nutricional y medición de presión arterial. Se obtuvieron asimismo, muestras de sangre. Se realizaron retinografías (RG), retinofluoresceínografias (RFG) y campimetría computarizada (FDT).

Resultados: De un total de 2740 examinados, 26.2% presentaron glaucoma; 6.6% mostraron algún signo de DMRE; 69.6 % exhibieron algún tipo de catarata y 17.1% respondieron afirmativamente a padecer diabetes o niveles altos de glucemia. De estos pacientes el 19.4% presentó algún grado de retinopatía diabética.

Se realizaron 1998 análisis de sangre. En los análisis de glucemia en ayunas, 21.32% de los individuos superaron los 110 mg/dl y el colesterol total fue ≥200 mg/dl en 52.25% pacientes.

Conclusión: En comparación a otros países, se evidenció una alta prevalencia, significativa, de diabetes y cataratas para Argentina. La prevalencia de DMRE fue menor. Esto podría deberse a que nuestra población es joven con respecto a las edades de aparición de DMRE.

Este estudio representativo permitirá aplicar políticas de salud y prevención a nivel nacional que permitan optimizar el empleo de los recursos disponibles.

DETECCIÓN DE QUERATOCONO SUBCLÍNICO MEDIANTE EVALUACIÓN BIOMECÁNICA CORNEAL CON OCULAR RESPONSE ANALYZER

Subclinical keratoconus detection by corneal biomechanical evaluation with ocular response analyzer

Galletti JG, Pförtner T, Fuentes Bonthoux F
División Oftalmología, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires - Sección Estudios Especiales, Laboratorio Pförtner
jeremiasg@gmx.net

Introducción: La detección del queratocono subclínico debería poder realizarse sobre factores detectables más tempranamente que los cambios topográficos corneales, y la evaluación biomecánica corneal podría ayudar en este sentido.
Objetivos: Comparar la histéresis corneal (CH) y el factor de resistencia corneal (CRF) en ojos controles y con queratocono dentro de un mismo rango de espesor centrocorneal (CCT) y estimar la sensibilidad y especificidad de estos parámetros para detectar queratocono.
Metodología: Serie de casos comparados de 103 ojos controles (grupo 1) y 77 ojos con queratocono (grupo 2), todos con CCT mayor a 440 µm. Se realizó topografía y tomografía corneal y evaluación biomecánica con Ocular Response Analyzer (ORA). Se utilizaron curvas de característica operativa de receptor (ROC) para obtener puntos de corte óptimos de CH y CRF en la detección de queratocono. Las variables principales fueron CCT, CH, CRF y rendimiento diagnóstico de CH y CRF.
Resultados: CH y CRF correlacionaron positivamente con CCT en ambos grupos. En grupo 1 versus grupo 2, los valores de CH (media±desvío estándar) fueron 9.79±1.51 versus 8.49±1.48 ($p < 0.0001$), y los de CRF, 9.55±1.64 versus 7.24±1.43 ($p < 0.0001$), respectivamente. Sólo CRF permaneció significativamente reducido en ojos con queratocono luego de la estratificación por CCT en intervalos de 20 µm y el grado de queratocono influenció los valores de CH y CRF. La sensibilidad y la especificidad de los puntos de corte de CRF obtenidos del análisis ROC estuvieron entre 83-94% y 69-83%, respectivamente. La tasa de verdaderos positivos de CRF en ojos con queratocono y topografía normal fue 84%.
Conclusión: CRF, pero no CH, es un parámetro útil para la detección de córneas con queratocono una vez considerado el efecto de CCT en las mediciones de ORA, aún en los ojos congéneres topográficamente normales de pacientes con queratocono unilateral.

EFECTO DE DESTELLOS PERIÓDICOS SOBRE EL TAMAÑO PUPILAR

Effect of periodic flashes on the pupilar size

Silva, B., Issolio, L. Colombo, E.
Instituto de Luz, Ambiente y Visión
CONICET - UNT
http://www.herrera.unt.edu.ar/dllyv/ilav.htm
Dpto. de Luminotecnia, Luz y Visión
Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología
Universidad Nacional de Tucumán
www.herrera.unt.edu.ar/dllyv
bsilva@herrera.unt.edu.ar

Introducción. Los incrementos repentinos de la luz que llegan a la retina causan una contracción en la pupila denominada *reflejo pupilar a la luz* (Pupil Light Reflex –PLR-). El tamaño pupilar es de gran importancia tanto en pruebas clínicas como de laboratorio, relacionando las condiciones de trabajo del sistema visual y el comportamiento del tramo óptico y neuro-retinal. La presencia de un flash en el campo visual lleva a la disminución de la pupila, y en consecuencia a la disminución de la cantidad de luz que llega a la retina, cuya respuesta no es instantánea sino que presenta un tiempo de latencia (dentro de ciertos rangos la bibliografía la considera constante). Usualmente en conducción nocturna en rutas el conductor es encandilado en forma continua, por lo cual es de interés de este trabajo evaluar la respuesta de la pupila.

Objetivos. El objetivo de este estudio es conocer la dinámica del reflejo pupilar ante deslumbramientos periódicos.

La hipótesis del trabajo es que al cabo de una secuencia de deslumbramientos la pupila se achicará hasta alcanzar un valor estable que indicaría que el sistema se adapta a un nivel de luminancia menor que el de la escena. También esperamos confirmar la estabilidad de t_L (tiempo de latencia) e investigar la dependencia de este valor con la edad de las personas.

Metodología. El experimento simula, en condiciones de laboratorio, la situación de conducción nocturna con deslumbramientos continuos, registrando los cambios del diámetro pupilar con el tiempo cuando una fuente deslumbrante es encendida y apagada periódicamente.

Utilizamos un sistema de cámaras de video y un programa que genera una cruz de fijación, desarrollado especialmente para este experimento.

Participaron 20 sujetos (10 entre 20 y 30 años, 10 entre 50 y 60 años), estos no usaron corrección refractiva durante la prueba. La tarea del observador era mirar hacia una cruz de fijación, sin restricción de pestañeo, mientras era deslumbrado cada 5 segundos, durante 0.5 segundos, 30 veces, este proceso fue repetido 3 veces, para tres luminancia de fondo: 0.1, 0.2 y 0.5 cd/m^2 (valores del rango mesópico). El nivel del deslumbramiento se midió en iluminancia sobre el ojo, fue de 60 lux.

Resultados. Encontramos que cuando el sujeto está sometido a la secuencia de encendidos de la fuente deslumbrante, el diámetro pupilar disminuye, cuyo efecto es más marcado en el grupo de adultos mayores, para el cual también hay mayor variabilidad. Para evaluar la diferencia entre los dos grupos etarios realizamos un histograma que confirma la descripción original. La caída del tamaño pupilar se traduce a un oscurecimiento de la escena del orden del 30% para los de mayor edad y no mayor al 20% para el grupo de los más jóvenes. Finalmente confirmamos la estabilidad del tiempo de latencia sobre los distintos valores de luminancia de adaptación y no encuentra diferencias significativas con la edad.

ROL DEL ACIDO ASCÓRBICO EN LA QUERATOPATÍA CLIMÁTICA

Forniés Paz ME[1], Crespo MG[1], Cafaro T[2], Crim N[1], Monti R[1], Serra HM[2],Urrets Zavalía JA[1].

[1]Centro de la Visión, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Universidad Católica de Córdoba, Argentina. [2]CIBICI, Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

kuky_fornies@hotmail.com

INTRODUCCIÓN: La queratopatía climática (QPC) es una enfermedad degenerativa de la córnea caracterizada por un velamiento progresivo de la misma, cuya etiología es desconocida, pero está vinculada a factores del medioambiente.

OBJETIVO: Determinar la presencia de queratopatía climática en pacientes y animales (ovejas) en dos regiones de la Provincia de Río Negro.

METODOLOGÍA: Estudio comparativo de dos campañas oftalmológicas realizadas en la localidad de Aguada Guzmán, departamento El Cuy, Pcia. de Río Negro, y en el Alto Valle de Río Negro. En las mismas, se realizó examen oftalmológico completo a 100 individuos de cada lugar y a 100 ovejas de la localidad de Aguada Guzmán. En todos los pacientes se tuvo en cuenta también: dieta, actividad laboral, tiempo de residencia en la zona, edad, sexo, etnia, lugar de nacimiento, antecedentes patológicos y oftalmológicos.

RESULTADOS: La prevalencia de QPC en pacientes del departamento El Cuy fue del 12% mientras que en el Alto Valle de Río Negro fue de 0%. La diferencia fundamental entre ambos grupos poblacionales fue el bajo nivel de ascorbato en la dieta de los individuos del departamento El Cuy. No detectamos ninguna anormalidad en córneas de ovejas del departamento El Cuy.

CONCLUSIÓN: La QPC es una enfermedad frecuente entre los individuos del departamento El Cuy mientras que está ausente en pacientes del Alto Valle de Río Negro expuestos a las mismas condiciones climáticas y laborales pero con una dieta variada en alimentos. La ausencia de enfermedad en los animales (ovejas) de la misma localidad y expuestos a las mismas condiciones climáticas nos lleva a afirmar que la síntesis de ácido ascórbico (AA) a partir de la dieta y su concentración en la córnea de ovejas marca la diferencia con la córnea humana. Por consiguiente, la existencia de niveles apropiados de AA en la córnea cumpliría un rol importante en la prevención de ésta enfermedad.

Palabras claves: queratopatía climática; córnea; ácido ascórbico.

ROL DE LA ONDA RÁPIDA DE CALCIO EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS EN ENDOTELIO DE CÓRNEA EN CULTIVO

Role of the fast calcium wave in wound healing in corneal endothelium in culture

Justet C, Hernández JA, Chifflet S.
Depto. Bioquímica, Fac. Medicina, UdelaR, Uruguay.
Correo electrónico: cjustet@fmed.edu.uy

Introducción. Luego de producida una herida en epitelios se desencadena una onda rápida de calcio (ORCa), la que muchos autores consideran iniciadora de la cicatrización. En nuestro laboratorio encontramos que, en endotelio de córnea de bovino (BCE) en cultivo, también ocurren dos ondas tardías y prolongadas: la onda de sodio (ONa) y la onda lenta de calcio (OLCa). Ambas presentan similar distribución y son dependientes del canal de sodio epitelial (ENaC), cuya inhibición reduce significativamente la velocidad de cicatrización.

Objetivos. Determinar el rol de la ORCa en el desencadenamiento de la migración celular durante la cicatrización en BCE.

Metodología. Se inhibió la ORCa en BCE mediante: i) incubación con ácido ciclopiazónico-EGTA; ii) desensibilización de los receptores purinérgicos, o iii) inhibición de los hemicanales. Se indujo un incremento de calcio citosólico (IC_i) utilizando ATP en epitelios con heridas o discontinuidades sin daño celular. En todos los casos, se determinó la velocidad de migración, el sodio (CoroNaGreen-AM) y calcio citosólicos (Fluo4-AM) y la distribución del ENaC (IIF).

Resultados. La velocidad de migración no cambió significativamente cuando se inhibió la ORCa o los receptores purinérgicos, ni cuando se indujo un IC_i, pero se redujo aproximadamente 40% cuando se inhibieron los hemicanales. Nuestros estudios mostraron que, ni la inhibición de la ORCa o los receptores purinérgicos ni la inducción de IC_i alteraron la DPMP, la ONa, la OLCa, o el incremento de la expresión de ENaC, pero que la inhibición de los hemicanales sí causó la reducción de estos fenómenos.

Discusión. Estos resultados sugieren que la ORCa y las señales generadas por la unión del ATP a receptores purinérgicos no serían necesarias para desencadenar la migración celular en la cicatrización de BCE. La apertura de hemicanales libres sí contribuiría al proceso, posiblemente permitiendo el pasaje de algún otro factor desencadenante de la migración.

INTERLEUCINA 1 BETA, MMPs Y TIMP-1 EN QUERATOPATÍA CLIMÁTICA.

IL1β, MMPs and TIMPs in Climatic Droplet Keratopathy

Cafaro Thamara A[1], Suarez Maria Fernanda, Santo Stefanía, Urrets-Zavalía Julio A, Serra Horacio M.

[1]CIBICI, Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

thamara_cafaro@yahoo.com.ar

La Queratopatía Climática (QPC) es una enfermedad bilateral degenerativa de la córnea, caracterizada por la aparición de un velamiento progresivo de sus capas más anteriores que puede producir un alto grado de discapacidad visual. En este trabajo investigamos en pacientes con QPC (n=17), controles sanos (n=10) que viven en zona rural de la Patagonia Argentina, y en 5 controles sanos urbanos gelatinasas, MMP-8, TIMP-1; y diferentes citocinas. MMP-2, MMP-9 y TIMP-1 fueron estudiados por zimografía, Western blot e inmunohistoquímica; MMP-8 y citocinas mediante inmuno ensayo multiplex.

Los valores de pro-MMP-9 y -2 fueron significativamente mayores en QPC vs C (p=0,03; y p=0,04). TIMP-1 fue significativamente menor en QPC (p=0.03). La concentración IL-1β en QPC fue 4 veces mayor que en C (p=0.09) y la de IL-8 fue 2 veces superior en pacientes (p=0.08). La forma derivada de neutrófilos de la MMP-8 no mostró diferencias significativas entre QPC y C (p=0.47). Sin embargo estos valores fueron 20 veces mayores a los hallados en lágrimas de individuos urbanos sanos.

Podemos concluir que en QPC el incremento de IL-1β favorece la secreción de gelatinasas potenciando el proceso inflamatorio que dificulta la reparación corneal. La acción de las gelatinasas se ve favorecida por los bajos niveles de TIMP-1 en pacientes. Los niveles incrementados de IL-8 causarían la atracción de PMN y la importante producción de MMP-8 en los individuos rurales.

SURAMAB, UN NOVEDOSO AGENTE ANTIANGIOGÉNICO, REDUCE LA NEOVASCULARIZACIÓN CORNEAL Y EL CRECIMIENTO DE TUMORES.

Lopez, Emiliano S.; Rizzo, Manglio M.; Mazzolini, Guillermo; Gallo, Juan E.
Area de investigación, Universidad Austral, Pilar, Buenos Aires, Argentina

Proposito: Las enfermedades oftalmológicas y oncológicas son frecuentemente tratadas con drogas antiangiogénicas. Nuestro propósito fue evaluar el efecto sinergístico de dos drogas antiangiogénicas administradas como un único compuesto farmacéutico en dos modelos animales.

Metodos: Se indujo la formación de neovasos corneales, aplicando un disco de papel de filtro embebido en 1M Na (OH) en el centro de la cornea de conejos White New Zealand. Se formaron tres grupos compuestos por nueve conejos cada uno. El grupo uno fue tratado después de la lesión con Suramab(S) endovenoso, compuesto por Bevacizumab+Suramina y el grupo 2 con Bevacizumab(B) endovenoso. Un tercer grupo no recibió tratamiento y fue considerado el grupo control(C). Se tomaron fotos digitales a los 9, 15, 21 y 35 días postlesión. Se calculó el índice de neovascularización (INV) utilizando el programa jimage. La formación de neovasos fue cuantificada dando un score de 0 a 4 a cada cuadrante según el grado de crecimiento centrípeto del vaso mas largo. Modelo animal de cancer colorectal: Se inoculó ratones machos BALB/c de 6 a 8 semanas, con células cancerígenas. Siete días después de la inoculación tumoral, cuatro grupos de ratones fueron tratados con B endovenosa (n=9); Suramina endovenosa (n=10); S endovenosa (n=10) y solución salina endovenosa (n=4). El crecimiento del tumor fue evaluado dos veces a la semana mediante un calibrador de medida.

Resultados: El grupo de conejos tratados con S endovenoso presentó un INV notablemente inferior en comparación con el grupo C despues de 35 días de seguimiento (T student, $p<0,0001$). S produjo un mayor efecto antiangiogénico en contraste con el producido por B (T student, $p<0,02$). S redujo el volumen tumoral significativamente y prolongó la sobrevida de los ratones en comparación con el control (One way anova, $p<0,05$).

Conclusiones: Suramab reduce intensamente el desarrollo de neovasos corneales en un modelo de neovascularización corneal en conejos e induce un potente efecto antitumoral en ratones .

Evaluación del Efecto Terapéutico de la Administración Tópica de SLPI y FP-MC, Inhibidores del Factor Nuclear K B, en el Tratamiento de la Lesión Corneal por Álcalis en Ratas. 7 Días de tratamiento.

Therapeutic effect of topical administration of slpi and fp-mc, inhibitors of nuclear factor k b, in treatment of corneal alkali injuri in rats. 7 days follow up.

Salica, JPº; Chuluyan E*, Guerrieri D*, Maffia P*, Rodriguez, A.R.º, Gallo JEº
ºGrupo de Investigación en oftalmología, Universidad Austral.
*Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Buenos Aires.
jp.salica@gmail.com

Introducción: Estudio previo de 3 días de tratamiento con PF-MC (Fusion Protein Cementoin-SLPI), demostró propiedades antiinflamatorias y antiangiogénicas.

Objetivos: Evaluar la eficacia del tratamiento tópico con SLPI (Secretory Leucocyte Protease Inhibitor) y FP-MC en la lesión corneal por álcalis a los 7 días.

Metodología: Se realizó una lesión corneal con hidróxido de sodio 1mol/L, contenido en un papel de filtro de 3mm, aplicado durante 40 segundos en la córnea de 18 ratas SD bajo anestesia general con hidrato de cloral. Las ratas fueron divididas en 3 grupos iguales (n=6) y recibieron SLPI (20 µg), FP-MC (2 µg) o Buffer en forma tópica, cuatro veces al día, por 7 días. Los resultados se compararon con corneas sanas. Los ojos fueron procesados para estudio histológico con HE, se analizaron 4 cortes por ojo y se evaluaron las siguientes variables: 1-infiltrado PMN en el centro y periferia de la córnea, 2- Número de capas de células epiteliales (centro y periferia) y 3- Neovascularización (extensión en número de campos 40X y profundidad).

Resultados:

1-La media de invasión de PMN en el centro de la córnea fue de 37,17 para SLPI, 1,67 FP, 180,05 Buffer, 0 en corneas normales. En la periferia fue 30,52 para el primer grupo, 1,57en el segundo, 119,91 en el tercero y 0,8 en corneas sanas.

2- El número de capas epiteliales en el centro y periferia, si bien fueron menores en el grupo Buffer, la diferencia fue no significativa.

3- SLPI presentó neovascularización en el segundo campo en el 17%, 2% en el cuarto campo y 0% en el sexto campo. FP-MC no presentó neovascularización mas allá del primer campo 40X. En el grupo Buffer se evidenció 40%, 35% y 15%, respectivamente.

Las corneas sanas no presentaban neovascularización corneal.

Discusión: La proteína de fusión-MC muestra propiedades antiinflamatorias y antiangiogénicas a los 7 días de tratamiento. Se continuará el estudio en búsqueda de resultados más contundentes.

LA ESFINGOSINA-1-FOSFATO ESTIMULA LA PROLIFERACIÓN Y MIGRACIÓN DE LAS CÉLULAS GLIALES DE MÜLLER.

Sphingosine-1-phosphate stimulates the proliferation and migration of muller glial cells.

Abrahan C.E., Navallas S.J., Politi L.E., Rotstein N.P. Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET. B. Blanca, Bs. As.

Introducción: El daño a la retina produce la activación de las células gliales, que proliferan y migran, dando lugar a una gliosis que puede alterar la visión. Identificar los mediadores involucrados en este proceso permitiría diseñar nuevos enfoques terapéuticos. El esfingolípido esfingosina-1-fosfato (S1P) es un mediador clave de la proliferación y migración de diferentes tipos celulares y participa en la proliferación vascular en las patologías retinales.

Objetivos: determinar si la S1P regula la proliferación y migración de las células gliales, y si el uso de un antagonista para uno de sus principales receptores de membrana, S1P3, bloquea estos efectos.

Materiales y Métodos: Para los ensayos de proliferación utilizamos cultivos de células gliales de Müller obtenidos de retinas de rata de 3-4 días tratados con o sin S1P 5µM durante 24 horas. Evaluamos luego recuento celular, incorporación de bromodeoxiuridina (BrdU) y [^{3}H]timidina. Para estudiar si S1P promovía la migración glial realizamos ensayos de scratch-wound en cultivos gliales confluentes, y utilizando explantos de retina, con o sin S1P. Para estudiar la organización del citoesqueleto realizamos tinción con faloidina e inmunomarcación para vimentina. Para bloquear la activación del receptor S1P3 usamos el antagonista BML-241.

Resultados: la S1P estimuló la proliferación glial: aumentó considerablemente el número de células gliales por cápsula, la incorporación de BrdU y de [^{3}H]timidina. Promovió también la migración glial: en ensayos de scratch-wound la S1P aumentó el número de células que cruzaron la marca realizada en la cápsula, respecto a las que lo hicieron en los controles. La S1P alteró también los patrones de organización de faloidina y vimentina. El uso de BML-241 bloqueó la migración inducida por S1P en las células gliales.

Conclusiones: la S1P podría participar como un potente estimulador en la proliferación y migración de las células de Müller, a través de la activación del receptor S1P3.

MIFEPRISTONA INDUCE LA MUERTE DE FOTORRECEPTORES NORMALES

Mifepristone induces death of normal photoreceptors

Cubilla MA, Castañeda MM, Bachor TP, Luzzani GA, Suburo AM.
Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Austral, Pilar B1629AHJ, Argentina.
maecubilla@gmail.com

Introduccion: Los glucocorticoides parecen ser de gran importancia para el mantenimiento de los fotorreceptores, ya que promueven su supervivencia en modelos animales de degeneración inducida por luz excesiva o hemorragia subretinal. Asimismo, demostramos recientemente que la administración de mifepristona (MFP), un bloqueante del receptor de glucocorticoides (RG), agrava la degeneración retinal inducida por luz en ratones Balb-c.
Objetivo: Investigar el efecto del bloqueo de los RG en condiciones de iluminación basal (12:12 luz:oscuridad, < 60 lux).
Metodologia: Se utilizaron ratones Balb-c machos, de 5 semanas. Los animales recibieron MFP, dexametasona (DEX), MFP + DEX o salina a las 12.00 hrs y fueron sacrificados 6 hrs después. Se detectaron los niveles de Caspasa Clivada-3 (CC-3), Bcl-X_L y Bcl-2 mediante Western blot. La localización de los RGs y de Bcl-X_L fue estudiada mediante inmunohistoquímica. Además, se aplicó el procedimiento TUNEL para la detección de ADN fragmentado.
Resultados: MFP indujo cambios en la inmunoreactividad de RG en las capas nucleares externa e interna. Los extractos de retinas de ratones controles contenían Bcl-X_L, pero no CC-3 ni Bcl-2. La administración de MFP redujo Bcl-X_L por debajo de los límites de detección, pero aumentó CC-3 y Bcl-2. DEX revirtió el aumento de CC-3, sin afectar los cambios sufridos por Bcl-X_L o Bcl-2. Simultáneamente aparecieron núcleos TUNEL+, únicamente en la capa de fotorreceptores.
Conclusiones: Nuestros experimentos demuestran que el bloqueo de los RG por MFP induce cambios proapoptóticos en la capa de fotorreceptores. Esto explicaría el efecto beneficioso de los glucocorticoides sobre ciertos modelos de degeneración de la retina. Por otra parte, sugiere que los glucocorticoides endógenos podrían ser esenciales para la supervivencia de los fotorreceptores normales.

ESTRÉS OXIDATIVO Y CAMBIOS ESTRUCTURALES EN LA RETINA DE RATAS EN DESARROLLO, EXPUESTAS A HIPEROXIA Y TRATADAS CON TAURINA

Oxidative stress and structural changes in the retina of rats developing exposed to hyperoxia and treated with taurine

Luz Marina Rojas

Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, Laboratorio de Retina

lmarinarojas@yahoo.com. Telf. 293 4521297

Con el propósito profundizar en los estudios sobre la ROP, se colocaron, separadamente, en una incubadora, cuatro madres con 12 crías cada una. A dos de ellas se le puso de Taurina (Tau, 3%) como agua de beber. Estas fueron expuestas a Hiperoxia (Hip, 80% de O_2) desde su nacimiento hasta el 6to, 9no, 12do y 14to días. Un grupo similar fue utilizado como control. En cada etapa fueron sacrificadas 5 crías y en sus retinas se analizaron los niveles de malonaldehido (MDA), superoxido dismutasa (SOD), y la histología. El mayor estrés oxidativo ocurrió al 9no día de Hip donde la concentración de MDA superó en un 50% la del control. A partir del 9no día el grupo Hip/Tau manifestó una recuperación en actividad del enzima SOD, y una disminución en la MDA. A los 14 días no se observó la capa plexiforme externa en las retinas del grupo Hip/sin Tau, sin embargo, en el Hip/tau esta capa estuvo presente. Posiblemente, la taurina ejerza un papel neuroprotector y antioxidante en la retina de ratas expuestas a Hip.

ESTIMULACIÓN MONOCROMÁTICA Y NEUROPLASTICIDAD RETINIANA

Monochromatic stimulation and retinal neuroplasticity

Fosser NS, Ríos H

Instituto de Biología Celular y Neurociencias. Facultad de Medicina. UBA.
hrios@retina.ar

La visión cromática depende de la existencia de conos con sensibilidades diferentes a ciertas longitudes de onda del espectro lumínico. En los pollos (*G. gallus*) existen 4 subtipos de conos; los sensibles a longitudes de onda corta, media, larga, y ultravioleta. Asimismo, la visión en colores depende del establecimiento de los campos On-Off para colores oponentes.

En este trabajo se estimularon individualmente los distintos circuitos relacionados con la visión de colores. Para ello realizamos privación espectral con estimulación monocromática, cerca de la zona de sensibilidad de la opsina de los fotorreceptores a estimular. Trabajamos con 4 grupos de animales, 3 de ellos con estimulación monocromática, y el último estimulado con luz blanca (control). Desde el nacimiento hasta el día P12, los animales son criados en ciclos de 12hs de estimulación y 12hs de oscuridad. Las retinas son fijadas y disecadas para su procesamiento para inmunohistoquímica. Los anticuerpos usados son contra proteínas fijadoras de calcio y contra proteínas de la vesícula sináptica (SV2) relacionadas con el calcio y la función sináptica. Las retinas son analizadas por morfométria y densitométria, luego de la adquisición de imágenes mediante microscopía confocal y óptica.

Nuestros resultados muestran cambios morfológicos en las sinápsis de los conos, particularmente en aquellos cuyo pie sináptico se encuentra en la capa más externa de la plexiforme externa (conos para media y larga longitud de onda), asi como en la segunda (capa plexiforme interna). Además existen diferencias en la morfología general de los conos, lo que sugiere un reacomodamiento de su citoesqueleto. Estos cambios sugieren fenómenos plásticos intrarretinianos a largo plazo debidos a la privación espectral y/o estimulación monocromática. UBACyT O 014

UN ÁCIDO GRASO OMEGA-3 PROMUEVE LA SUPERVIVENCIA DE LOS FOTORRECEPTORES ACTIVANDO UN RECEPTOR PARA RETINOIDEOS.

An omega-3 fatty acid promotes photoreceptor survival activating a retinoid receptor.

German L, Monaco S, Agnolazza D, Rotstein N y Politi L.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET. 8000 Bahía Blanca, Argentina.
E-mail: olgerman@criba.edu.ar

Introducción: En muchas enfermedades neurodegenerativas de la retina, los fotorreceptores (FR) degeneran progresivamente por apoptosis causando ceguera. Demostramos que un ácido omega-3, el ácido docosahexaenoico (ADH) promueve la supervivencia de los FR de retina de rata tanto durante su desarrollo temprano *in vitro* como frente al daño oxidativo, activando la vía de señalización de la ERK/MAP quinasa.
Objetivo: investigar si una molécula de naturaleza lipídica como el ADH activa dicha vía de señalización por activación directa de receptores del tipo tirosina quinasa (TRK) o del receptor nuclear para retinoideos (RXR).
Metodología: utilizamos cultivos neuronales puros de retina con o sin ADH (6,7 μM) de 6 días o tratados al día 3 con agentes oxidantes (paraquat, PQ 48 μM o H_2O_2 10 μM). Para investigar la activación de los receptores TRK y RXR agregamos a los cultivos el inhibidor K252a y los antagonistas HX531 y PA452, respectivamente, previos al agregado de ADH. Evaluamos también si la estimulación del RXR con los agonistas HX630 y PA024 reducían la producción de especies oxígeno reactivas (ROS) frente al daño oxidativo con H_2O_2, como demostráramos para el ADH, cuantificando fluorimétricamente los ROS. Evaluamos apoptosis con la sonda nuclear DAPI.
Resultados: el ADH redujo la apoptosis de los FR durante el desarrollo temprano *in vitro* aún en presencia del inhibidor de TRK; en contraste, este inhibidor bloqueó el efecto protector de la insulina sobre las neuronas amacrinas, aumentando su apoptosis. Antagonistas del RXR inhibieron la protección del ADH frente a la apoptosis inducida con PQ, mientras que sus agonistas disminuyeron la producción de ROS de manera semejante al ADH en cultivos neuronales tratados con H_2O_2.
Conclusión: Estos resultados sugieren que el ADH promovería la supervivencia de los fotorreceptores de retina a través de la activación del receptor RXR, y no a través de los receptores TRK.

PRESENCIA DE DIACILGLICEROL KINASA DZETA (DAGKζ) EN NÚCLEOS DE LA RETINA DE VERTEBRADOS.

Presence of diacylglycerol kinase dzeta (DAGKζ) in the nucleus of vertebrate retina.

Natalini P, Zulian S, Giusto N e Ilincheta de Boschero M. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (UNS-CONICET). Cno. La Carrindanga km 7, Bahía Blanca. E-mail: pnatalini@criba.edu.ar

Los fosfolípidos (FL) nucleares se localizan tanto en la envoltura como en la matriz nuclear y asociados a la cromatina. La señal lipídica intranuclear está relacionada con FL del inositol, de la colina y el ciclo de deacilación. La actividad DAGK se ha asociado al control de la activación de PKC, con participación en la señalización de factores de crecimiento. La isoforma DAGK dzeta (tipo IV) se ha probado que, en células en cultivo, se localiza en núcleos y regula la concentración de DAG. El objetivo de este trabajo fue determinar su presencia y actividad en los núcleos de la retina de vertebrados. La presencia se determinó en dos modelos, en cortes de retina (rata) y en núcleos aislados de retina (bovinos). Se utilizó inmunohistoquímica e inmunofluorescencia. Para medir actividad se aislaron los núcleos de las retinas bovinas y se ensayaron en condiciones de activación de la isoforma. Las retinas fueron homogeneizadas en medio TKM con sacarosa 0.25 M y purificadas en un gradiente de sacarosa. El pellet representa una fracción nuclear compleja y su pureza se chequeó por tinción con DAPI. La medida de la actividad DAGK se realizó utilizando DAGs marcados (glicerol-[3H]). El ensayo de DAGK se realizó en micelas de detergente-lípido utilizando Tritón X100 y 2 mM de ATP. La actividad enzimática se midió aislando el ácido fosfatídico (PA) mediante CCF. En 5 y 10 min de incubación se detectó formación de PA (1,2 y 2,5 % del sustrato DAG fue transformado) y la fosfatidilserina (activador de la isoforma dzeta) estimuló la actividad en un 250 %. R59022, inhibidor de isoformas de tipo I, inhibió parcialmente dicha actividad (40 %). Los resultados indican que la isoforma se halla presente en los núcleos de la retina y que las condiciones de ensayo son adecuadas para su estudio.

CÉLULAS RGC-5 COMO FOTORRECEPTORES NO VISUALES Y OSCILADORES CIRCADIANOS

RGC-5 cells as non-visual photoreceptors and circadian oscillators.

Nieto PS, Valdez DJ, Acosta-Rodríguez VA and Guido ME

Dpto de Qca. Biológica (CIQUIBIC)-Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Nacional de Córdoba.

In mammals, non-visual responses to light are still observed in the absence of functional rods and cones. These responses have been shown to be mediated by a subset of retinal ganglion cells (RGCs) which are intrinsically photoresponsive and express the novel photopigment melanopsin (Opn4). In addition, diverse visual and non-visual opsins have been recently detected in the mammalian inner retina. The aim of this work was to study the retinal ganglion cell line (RGC-5) as autonomous circadian oscillators and photosensitive cells. We measured in RGC-5 cultures: light responses on the induction of c-Fos expression and on Ca^{2+} mobilization as well as expression of different visual/non-visual opsins. Our observations revealed that a brief white light pulse significantly induced c-Fos expression in the cultures as compared to dark controls whereas a subset of RGC-5 cells exhibits a light-increase in intracellular Ca^{2+}levels. In addition, we found in RGC-5 cells detectable mRNA levels for several opsins (S/ML Opn1, Opn3, Opn5, RGR,) but not for Opn4 or rhodopsin. Also, we observed that RGC-5 cells express several clock proteins as well as the mRNA for the key enzyme in melatonin synthesis AA-NAT. The results strongly suggest that oscillators and photoreceptors converge in RGC-5 cells.

DETECCIÓN DE AUMENTO DE NITROTIROSINA ASOCIADA AL DAÑO OXIDATIVO EN LA RETINA LUEGO DE ILUMINACIÓN CONTINUA.

Detection of increased nitrotyrosine associated oxidative damage in the retina after continuous light.

J. Sánchez de Bustamante, N. Manta Llopart, M. Soliño, EM. López, y JJ. López-Costa.
IBCyN ¨Prof. E. De Robertis¨, Fac. Medicina, UBA-CONICET. Email: jjlopez@fmed.uba.ar.

Introducción: La iluminación continua (IC) de la retina produce la degeneración de los fotorreceptores debido al daño oxidativo. En estudios previos demostramos la producción de NO durante la IC por Resonancia Paramagnética Electrónica, dando la máxima señal a las 24 hs en coincidencia con el pico en la expresión de la iNOS revelado por Western Blot. La microscopía electrónica mostró la presencia de apoptosis en la capa nuclear externa a los 2 y 5 días de IC. Como el NO puede ser neurotóxico, su aumento en la retina podría ser uno de los radicales libres responsables de la degeneración observada durante la IC.
Objetivo: Determinar la presencia del efecto oxidativo del NO en el tejido mediante la demostración de la nitrosilación de proteínas por inmunocitoquímica empleando un anticuerpo anti-nitrotirosina (Ntir) (Rodrigo et al, 2001).
Métodos: Se emplearon ratas Sprague Dawley controles y otras sometidas a IC (12000 lux) durante 1, 2, 5 y 7 días. Los ojos de las ratas controles (CTL) e iluminadas fueron fijados por inmersión en paraformaldehído al 4 %. Las secciones de los ojos fueron procesadas mediante la técnica inmunocitoquímica de IF/PAP empleando un anticuerpo anti-ntir y contrateñidas con DAPI.
Resultados: En animales CTL se observó inmunoreactividad para Ntir en el las capas nuclear interna (CNI) y de células ganglionares (CG). Luego de la iluminación continua fue posible encontrar un aumento de la nitrosilación encontrándose reactividad en la capa nuclear externa (CNE) y también en las capas CNI y CG.
Conclusiones: Los resultados obtenidos permiten concluir que el aumento de NO durante la IC produce un incremento de la nitrosilación de proteínas en la retina precediendo al daño morfológico previamente reportado. Postulamos que la administración de inhibidores de la síntesis de NO podría proteger del daño retiniano inducido por IC (Subsidiado por UBACYT M040).

LAS CÉLULAS GLIALES DE MÜLLER PERMITEN CONSERVAR NEUROBLASTOS LUEGO DE VARIOS PASAJES E INDUCEN SU DIFERENCIACION EN FOTORRECEPTORES FUNCIONALES

Müller glial cells preserve neuroblasts after several passages and instruct them to differentiate as functional photoreceptors

Simón MV, De Genaro P, de los Santos B, Rotstein N, Politi L. (*Mail: mvsimon@criba.edu.ar)*

Instituto de Investigaciones Bioquímicas, UNS-CONICET, Bahía Blanca, Bs. As.

OBJETIVOS: Las células gliales de Müller (CGM) son actualmente consideradas stem cells en retina, con la potencialidad de reemplazar neuronas perdidas en enfermedades neurodegenerativas. Previamente establecimos que los neuroblastos (NB) en co-cultivo con CGM preservan su estado proliferativo, pueden ser re-sembrados y eventualmente comenzar su diferenciación en fotorreceptores (FRs). Investigamos ahora si la interacción con CGM permite conservar NB con características de stem cells luego de varios pasajes, y si es posible diferenciarlos luego en FRs maduros.

MÉTODOS: Co-cultivos neuro-gliales de retina de rata se sembraron en medio con suero por 7 días, tras lo cual fueron repicados una o varias veces para generar co-cultivos secundarios o los correspondientes pasajes. Los NB se identificaron por morfología, expresión de Pax6 y Nestina y por incorporación de 5-bromo-deoxiuridina (BrdU), mediante inmunocitoquímica y citometría de flujo. La diferenciación de los NB en FRs se determinó por la expresión de opsina, Crx y periferina. La funcionalidad de los FRs se evaluó mediante la cuantificación de cGMP luego de la exposición a la luz.

RESULTADOS: Mediante citometría de flujo e inmunocitoquímica se determinó que el 5% de las células redondas y pequeñas presentes en co –cultivos secundarios expresaron marcadores de stem cells (incorporación de BrdU, expresión de Nestina y Pax6), expresión que conservaron aún luego de cuatro pasajes. Las CGM indujeron la diferenciación de los NB en FRs maduros y funcionales, los cuales expresaron opsina y periferina y respondieron a la luz disminuyendo sus valores de cGMP.

CONCLUSIONES: Nuestros resultados sugieren que las CGM generan y/o mantienen NB proliferativos y con características de stem cells luego de varios pasajes, y que luego los instruyen a iniciar su diferenciación y desarrollarse hasta convertirse en FRs funcionales.

SUBSIDIOS: SECYT (UNS), CONICET, FONCYT

ALTERACIONES TEMPRANAS DE LA VÍA VISUAL EN LA RETINOPATÍA DIABÉTICA EXPERIMENTAL

Early alterations of the visual pathway in experimental diabetic retinopathy

Bordone M, Fernandez DC, Dorfman D, Rosenstein RE
Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA, CEFyBO-CONICET. diegofil@yahoo.com.ar

La retinopatía diabética (RD) constituye una de las principales causas de ceguera irreversible. Clásicamente esta patología se ha asociado a daño vascular, con aumento en la permeabilidad, engrosamiento de la lámina basal y formación de neovasos. Sin embargo, más recientemente se ha demostrado que la RD afecta también a distintas células retinianas, incluyendo a las células ganglionares (CG). Al presente, la vía visual diabética ha recibido escasa atención. En este trabajo, se caracterizaron las alteraciones tempranas inducidas por la RD en la vía visual pre y post-quiasmática.

Se utilizaron ratas *Wistar* inyectadas con estreptozotocina (60 mg/kg) o vehículo (control). Luego de 6 semanas de confirmada la hiperglucemia (>350mg/dl), se analizaron alteraciones en el transporte anterógrado (inyección intravítrea de toxina colérica), cambios morfológicos en el nervio óptico (NO) (cuantificación del número y tamaño de axones y alteraciones astrogliales), cambios en la mielinización (inmunomarcación de MBP (proteína básica de mielina) y alteraciones en el linaje oligodendrocitario) y cambios neuronales y/o gliales en el colículo superior (CS).

Luego de 6 semanas de inducción de la diabetes, no se observaron diferencias en el número de CG así como en el número de neuronas en el CS. Sin embargo, resultó evidente una falla en el transporte anterógrado, comparado con animales controles. En cortes transversales de NO (región próxima al quiasma óptico) de animales diabéticos, se observó una disminución significativa en el número de axones totales, y un aumento de astrocitos-GFAP (proteína ácida glial fibrilar) inmunoreactivos, que no fueron evidentes en la cabeza del NO. En los nervios ópticos diabéticos, se observaron fallas en la mielinización, junto con alteraciones en oligodendrocitos inmaduros (O1+).

Estos resultados demuestran que las alteraciones en la vía visual constituyen un componente temprano en la RD.

INFLAMACION CRONICA EN RETINOPATIA DIABETICA EN UN MODELO DE DIABETES TIPO 2 ALIMENTADO CON UNA DIETA ALTA EN GRASA

Cronic inflamation in diabetic retinopathy in a type 2 diabetes model fed on a high fat rich diet

Mancini JE[1], Basabe JC[2], Croxatto JO[3] , Gallo JE[1].

[1]Oftalmología, Facultad de Ciencias Biomedicas, Buenos Aires, Argentina;
[2]Endocrinologia, Centro de Investigaciones Endocrinologicas, Buenos Aires, Argentina;
[3]Patologia Ocular, Fundación Oftalmológica Argentina, Buenos Aires, Argentina.

Introducción: La retinopatía diabética es la principal causa de ceguera en pacientes en edad laboral. La diabetes tipo 2 es la principal causa de diabetes y esta enfermedad esta íntimamente relacionada con la obesidad.

Objetivo: Evaluar la inflamación en la retina de animales diabéticos alimentados con dieta alta en grasa.

Métodos: se utilizaron 10 ratas hembras de la raza wistar a las cuales se les inyecto 45 mg/Kg de streptozotocina intraperitoneal al 2do día de vida. Desde la 8tva semana en adelante se las alimento con una dieta alta en grasa (DAG). A los 2 años de diabetes se las sacrifico. Un grupo de ratas no diabéticas de la misma edad, sexo y raza fueron utilizadas como controles. Las retinas se analizaron inmunohistoquimicamente con IL-17, 15LO, VEGF, PECAM, PLA2 e histológicamente con PAS y H&E.

Resultados: Inmunihistoquimicamente las retinas diabéticas mostraron una marca mayor para IL-17, 15-LO, VEGF, PECAM y PLA2 que en las retinas de ratas controles.

Conclusión: Este modelo de diabetes tipo 2 muestra signos de inflamación crónica en la retina. Puede ser un modelo útil para el estudio de la fisiopatología de esta enfermedad.

DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL DE RETINOPATÍA DIABÉTICA TIPO 2

Development of an experimental model of type 2 diabetic retinopathy

Salido EM, Arias P, Rosenstein R.
Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, U.B.A. ezequielsalido@yahoo.com

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad metabólica caracterizada por hiperglucemia crónica debida a una resistencia celular a los efectos de la insulina, combinada con la secreción deficiente de esta hormona. La retinopatía es una de las complicaciones microvasculares más características de la diabetes. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo de retinopatía diabética de tipo 2 en ratas adultas. El modelo consistió en generar una resistencia periférica a la insulina a través de la administración ad libitum de sacarosa al 30% en el agua de bebida. Luego de 3 semanas, se inyectó estreptozotocina (STZ) (30 mg/Kg, i.p.). Como control, se utilizaron ratas de la misma edad, divididas en 3 grupos: grupo 1 (control): animales sin sacarosa y sin STZ, grupo 2: animales con dieta rica en sacarosa y sin STZ, y grupo 3: animales con dieta normal e inyección de STZ.

A las 6 semanas de tratamiento, sólo los animales que recibieron el tratamiento combinado de sacarosa y STZ mostraron, diferencias significativas en los test metabólicos efectuados (glucemia basal en ayuno, glucemia pre y post-prandial, niveles de fructosamina y test de resistencia periférica a la insulina y tolerancia oral a la glucosa).

A las 12 semanas de tratamiento combinado, la función retiniana, analizada mediante electrorretinografía, indicó una disminución significativa en las amplitudes de la onda a, b y los potenciales oscilatorios. Se observó un aumento del estrés oxidativo y de la actividad de la óxido nítrico sintasa retiniana. Asimismo, se evidenció la presencia de un marcador de daño retiniano, la proteína glial fibrilar ácida en procesos de células de Müller.

Estos resultados indican que la combinación de una dieta rica en sacarosa y una lesión pancreática parcial reproduce alteraciones retinianas compatibles con etapas tempranas de la retinopatía diabética de tipo 2.

EVALUACION IN VIVO DE FILMS BIOADHESIVOS PARA ADMINISTRACIÓN OFTÁLMICA DE FÁRMACOS

In vivo evaluation of bioadhesive films for ocular drug delivery

Tártara I, Llabot J, Allemandi D, Palma S.
i.tartara@gmail.com

Laboratorio de Farmacotecnia. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, CONICET, UNCórdoba, Argentina.

Introducción: La formulación de films bioadhesivos para el tratamiento de afecciones oculares representa un gran desafío farmacotécnico ya que deben optimizarse propiedades de adhesión (tiempo de permanencia), flexibilidad, liberación modificada y aceptación del paciente, lo que implica la adecuada selección de excipientes y procesos de obtención. El objetivo del trabajo fue evaluar la eficacia de films bioadhesivos utilizando timolol como fármaco modelo.

Materiales y métodos: Se obtuvieron films a partir de mezclas de carboximetilcelulosa sódica (CMC), carbomer 974P (CB), polietilenglicol 400 (PEG), poloxamer y timolol. Se estudió el comportamiento del film en términos de adhesión, hinchamiento e irritación con oftalmoscopio binocular indirecto en conejos New Zealand, (n=6), y determinación de presión intraocular (PIO) con tonómetro manual, utilizándose conejos con hipertensión ocular experimental, (n=3).

Resultados: Ningún film evaluado produjo irritación ocular. El comportamiento sobre la superficie ocular obtenido para el film compuesto por CB 23,3%, CMC 46,6%, poloxamer 23,3%, PEG 2,2% y timolol 4,7% fue el más satisfactorio. Se alcanzó una permanencia en la conjuntiva ocular de 72 horas, aumentando su tamaño y espesor al doble del original. El descenso de la PIO fue de hasta un 50% los primeros 180 minutos y al cabo de 8 hs se registro un descenso de 20%.

Discusión/Conclusión: Mediante la optimización de un film se logró un marcado descenso de la PIO dentro de las primeras 3 horas post-aplicación, aunque no fue posible la performance durante el tiempo de permanencia del film en el ojo. Sobre la base de estos resultados se rediseñan las estrategias para la optimización de nuevos sistemas.

INDICE DE AUTORES

Abrahan CE. 33
Acosta Rodriguez VA. 39
Agnolazza D. 37
Allemandi D. 45
Altamirano JC. 22
Arias P. 44
Artal MN 25
Bachor TP 34
Barcelona PF. 12
Basabe JC. 43
Belforte N. 18
Bordone M. 42
Bussi C. 14
Cafaro TA. 28,30
Castañeda MM. 34
Chiabrando GA. 12, 13
Chianelli M. 18
Chifflet S. 29
Chuluyan E. 32
Colombo E. 27
Contín MA. 14, 15
Crespo MG. 24,28
Crim N. 24,28
Croxatto JO. 43
Cubilla MA. 34
De Genaro P. 41
de los Santos B. 41
de Zavalía N. 19
Díaz NM. 16, 17
Dorfman D. 42
Espejo JV. 25
Falcione F. 20
Fernández DC. 42
Fiocca VL. 22
Fontana H. 19
Fornies Paz ME. 24,28
Fosser NS. 36
Fuentes Bonthoux F. 26
Galletti JG. 26
Gallo JE. 31,32,43
García LG. 22
German L. 37
Giusto N. 38
Gramajo AL 21, 22,23,25
Guarnieri F 20
Guerrieri, D. 32
Guido ME. 14,15,16,17,39
Hernández JA. 29
Hicks D. 15
Ilincheta de Boschero M. 38
Iribarren R. 25
Issolio L. 27
Juárez CP. 21,22,23,25
Justet C. 29
Knoll EG. 24
Lanzani F. 19
Lerner FS. 25
Libas A. 23
Llabot J. 45
Lódolo PG. 20
Lopez ES. 31,40
López-Costa JJ. 40
Lorenc VE. 13
Luna JD. 21,22,23,25
Luzzani GA 34
Maffia P. 32
Mancini JE. 43
Manta Llopart N. 40
Marquez GE. 21
Mazzolini, G. 31
Méndez Nicolia GA. 25
Mónaco S. 37
Monti R. 24,28
Natalini P. 38
Navallas S. 33
Nieto, P. 39
Ortiz SG. 12, 13
Palese M 19

Palma S. 45
Peña FY. 21
Pförtner T. 26
Politi, L. 33,37,41
Ríos H. 36
Rizzo Manglio M. 31
Rodriguez, A.R. 32
Roig, E. 22
Rojas LM 35
Rosenstein R. 18,19,23,41,42, 44
Rotstein NP. 33,37
Salica JP. 32
Salido EM. 44
Sánchez de Bustamante, J. 40
Sánchez, MC. 12, 13
Sánchez, VML. 21
Sande, P. 18
Santo, S. 30
Santos, A. 22
Serra, HM. 24,28,30
Silva B. 27
Simón MV. 41
Soliño M. 40
Suarez MF. 30
Suburo AM. 34
Tártara I. 45
Tell A. 20
Torres RM. 20
Torres VE. 21,25
Urrets Zavalía JA. 24,28,30
Valdez, DJ. 16, 17,39
Verra D. 14, 15
Yadarola MB. 25
Zelaya N. 21
Zulián S. 38