V CONGRESO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN VISIÓN Y OFTALMOLOGÍA

25 de Octubre de 2008

Salón de conferencias. Edificio Integrador Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Organizado por la

ASOCIACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN VISIÓN Y OFTALMOLOGÍA

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

Comisión Directiva Constitutiva (ad hoc)

Presidente:	Dr. Juan Oscar Croxatto
Vicepresidente:	Dr. Mario E. Guido
Secretario:	Dr. Luis Politi
Tesorero:	Dra. Ángela Suburo
Secretario de Relaciones Institucionales:	Dr. Juan Gallo
Vocales Titulares:	Dra. María Paula Faillace Dr. José Luna Pinto Dra. Nora Rotstein Dra. María Cecilia Sánchez
Vocales Suplentes:	Dr. Patricio Juárez Beltrán Dr. Rafael Iribarren Dr. Pablo Barrionuevo Dra. Vanesa Torbidoni

Conferencistas

- Dr. Stanley A Vinores. Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA.
- Dr. Patricio Juarez. Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina.
- Van C. Lansingh, MD, PhD. Coordinador Regional de VISIÓN 2020 LA.
- Dra. Ruth Rosenstein. Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina. UBA, CEFyBO-CONICET.
- Dra. Celia Sánchez-Ramos. Escuela de Óptica. Universidad Complutense de Madrid, España.

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

Comité Organizador Local

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

Auspicios:

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

AGENCIA
NACIONAL DE PROMOCION
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA

UNC SECyT Secretaría de Ciencia y Tecnología
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA

Alcon®

LABORATORIO PFÖRTNER

Contactologia óptica

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

V CONGRESO

25 DE OCTUBRE DE 2008

PROGRAMA

8:00 hs Inscripción y recepción de presentaciones.

8:55 hs Apertura

MODULO I: RETINA EXPERIMENTAL I

Coordinadores: Luis Politi y Gabriela Díaz Barboza

1. **09:00 hs** Ontogenia de factores de transcripción, opsinas, y factores regulatorios de las cascadas de fototransducción en retina de pollo.
Verra DM, Contín MA y Guido ME.

2. **09:10 hs** Regulación fótica del sistema circadiano: mecanismo de fototransducción de CGR.
Contín MA, Verra DM y Guido ME.

3. **09:20 hs** Respuestas de una línea inmortalizada de células ganglionares retinales de mamíferos al ATP y a la luz
Nieto P, Acosta-Rodriguez VA y Guido ME.

4. **09:30 hs** Distribución de los receptores CB2 en la retina de rata y sus modificaciones luego de iluminación continua.
López EM, Tagliaferro AP, Onaivi ES y López-Costa JJ.

5. **09:40 hs** Efecto del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) sobre la activación de Metaloproteinasa-2 (MMP-2) en células gliales de Müller.
Lorenc VE, Barcelona PF, Ortiz S, Chiabrando GA y Sánchez MC.

6. **09:50 hs** Las células de Müller y el acido docosahexaenoico promueven el mantenimiento de neuroblastos y su diferenciación en fotorreceptores de retina
Simón MV, Rotstein NP y Politi LE.

Coffee Break

MODULO II: INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y EXPERIMENTAL APLICADA I

Coordinadores: Juan Gallo y Laura Gramajo

7. **10:15 hs** Vidrios oscurecidos en los automóviles: ¿una reducción en la visión comparable a valores clínicos?
Santillán J, Martín A y Barrionuevo P.

8. **10:25 hs** Anticuerpo anti-galectina-1 en pacientes con pars planitis
Garcia LG, Muiño JC, Romero M, Rabinovich G, Pusterla JP, Luna JD y Juárez CP.

9. **10:35 hs** Prevalencia y causas de ceguera y baja visión en una población urbana de Paraguay.
Jure Vallejos DR, Peña FY, Samudio M y Ocampos J.

10. **10:45 hs** Estudio preliminar de flujo vascular en tumores y seudotumores coroideos.
Gentile CM, Dovasio MF, García MM, Lombardi A y Croxatto JO.

11. **10:55 hs** Nueva técnica histológica digital para la representación de la circulación del humor acuoso en el seno camerular.
Zárate JO, Racca ML y Sampaolesi R.

11:05 hs **CONFERENCIA** Dra. Ruth Rosenstein. "Estudio de mecanismos etiopatogénicos en un modelo de glaucoma experimental". Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina. UBA, CEFyBO-CONICET.

MODULO III: MODELOS EXPERIMENTALES I y CORNEA
Coordinadores: Ángela Suburo y Pedro Panzetta.

12. **11:20 hs** Efecto terapéutico de la melatonina en un modelo experimental de glaucoma.
de Zavalía N, Moreno MC, Keller Sarmiento MI y Rosenstein R.

13. **11:30 hs** Estudio del efecto terapéutico de la neurotomía optica radial en un modelo de glaucoma experimental inducido por la cauterización de venas epiesclerales.
Belforte N, Sande P, Chianelli M, Rosenstein R.

14. **11:40 hs** Expresión inmunohistoquimica de GFAP y RAGE en la retina de tres modelos animales distintos de diabetes.
Mancini JE, Basabe JC, Croxatto OJ y Gallo JE.

15. **11:50 hs** Expresión inmunohistoquímica de TNF-α y VEGF en la retina de tres modelos animales distintos de diabetes.
Gallo JE, Mancini JE, Basabe JC y Croxatto OJ.

16. **12:00 hs** Evaluación de complejos polímero catiónico-fármaco. Incremento de la permeación transcorneal de flurbiprofeno.

Quinteros DA, Tartara LI, Maletto B, Palma SD, Manzo RH y Allemandi DA.

17. **12:10 hs** Efecto de los receptores canabinoides sobre la proliferación celular y activación de vías de estrés en células del epitelio corneal.
Iribarne M, Cubilla MA, Torbidoni AV, Berra A y Suburo AM.

18. **12:20 hs** Receptores canabinoides en el epitelio corneal
Sgroi M, Cubilla MA, Iribarne M, Hansen L, Berra A y Suburo AM.

19. **12:30 hs** Dieta deficiente en acido ascórbico: Efectos en cornea de cobayo.
Cafaro TA, Ortiz S, Robles L, Urrets-Zavalía y Serra HM.

20. **12:40hs** Suramab, inhibe el desarrollo de neovasos en un modelo animal de neovascularización corneal.
Lopez ES, Croxatto O, Kvanta A y Gallo JE.

12:50-14:30 hs **ALMUERZO (Patio Exterior Facultad de Ciencias Químicas)**

14:30 hs **CONFERENCIA AIVO** Dr. Stanley A Vinores. "Anti-PlGF as a possible alternative or supplement to anti-VEGF therapy for ocular disease". Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

MODULO IV: RETINA EXPERIMENTAL II
Coordinadores: Pablo Sande y Nori Tolosa de Talamoni

21. **15:00 hs** Efecto de neuroesteroides sobre la actividad gabaérgica retiniana.
Salido E, Jaliffa C, Keller Sarmiento MI y Rosenstein R.

22. **15:10 hs** El estrés oxidativo promueve la proliferación y dediferenciación glial in vitro.
Abrahan C y Rotstein N.

23. **15:20 hs** Factores tróficos estimulan la síntesis de esfingosina-1-fosfato como señal para promover la proliferación y diferenciación de los fotorreceptores.
Miranda G y Rotstein N.

24. **15:30 hs** Menadiona desencadena muerte celular vía estrés oxidativo en células ganglionares de retina
Díaz de Barboza GE, Carpentieri AR, Peralta López ME y Tolosa de Talamoni NG.

25. **15:40 hs** Melatonina previene la muerte celular desencadenada por glutamato y BSO en células ganglionares de retina.
Carpentieri AR, Díaz de Barboza GE, Peralta López ME y Tolosa de Talamoni NG.

26. **15:50 hs** Efecto terapéutico de la melatonina en la uveítis felina
Del Sole MJ, Sande PH, Fernández D, Aba MA y Rosenstein RE.

27. **16:00 hs** Estudio del postcondicionamiento isquémico retiniano
Fernandez DC, Bordone M, Aldana HJ y Rosenstein R.

28. **16:10 hs** Participación de la Dopamina en la regulación de la actividad AA-NAT de la retina de pollo.
Valdez DJ, Rosenstein R y Guido ME.

Coffee Break

16: 30 hs **CONFERENCIA** Dra. Celia Sánchez-Ramos. "Protección ante la luz visible en procesos neurodegenerativos retinianos" Escuela de Óptica. Universidad Complutense de Madrid, España.

MODULO V: MODELOS EXPERIMENTALES II
Coordinadores: Santiago Palma y Daniel Sáenz

29. **16:50 hs** Mecanismos de los efectos de la nicotina en células vasculares y retinales en cultivo.
Gramajo AL, Patil AJ, Sharma A, Neekhra A, Ayassa AA, Kuppermann BD y Kenney MC.

30. **17:00 hs** Modelo de LASIK en gallinas.
Torres RM, Merayo-Lloves J, Blanco-Mezquita T, Günther CP y Martínez-García C.

31. **17:10 hs** Uso de la Melatonina como tratamiento antiinflamatorio en un modelo de uveítis experimental en el hámster
Sande P, Fernandez D, Chianelli M, Rosenstein R y Sáenz DA.

32. **17: 20 hs** Toxicidad ocular Omalizumab (Xolair) intravítreo en conejos.
Pusterla JP, Colombres GA, García LG, Muiño JC, Diaz H, Luna JD y Juarez CP.

33. **17: 30 hs** Estudios de permeación intraocular *in vitro* de un complejo multicomponete de acetazolamida con HP-ß-CD y TEA.
Palma SD, Tartara LI, Quinteros D, Allemandi DA, Longhi MR y Granero GE

17: 40 hs **CONFERENCIA** Dr. Patricio Juarez. “Uveítis: Rol del privilegio inmunológico ocular”. Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina.

MODULO VI: INVESTIGACIÒN CLINICA Y EXPERIMENTAL APLICADA II
Coordinadores: José Luna Pintos y Alejandro Berra

34. **18:00 hs** Expresión y localización del low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) y alfa-2 Macroglobulina (α_2-M) en retinas humanas de pacientes diabéticos y con anemia falciforme.
Barcelona PF, Luna JD, Juarez CP, Chiabrando GA, Lutty G y Sánchez MC.

35. **18:10 hs** Bevacizumab vs. Triamcinolona intraocular en el edema macular diabético difuso. estudio prospectivo randomizado: un año de seguimiento.
Isequilla MA, Gramajo AL, Yadarola MB, Juarez CP y Luna JD.

36. **18:20 hs** Estudio pre-clínico: implante de láminas epiteliales corneales autólogas cultivadas sobre plasma pobre en plaquetas en conejos con déficit de Stem Cells limbares**.**
Luengo Gimeno F, Lavigne MV, Gatto AS, Ferro J, Croxatto JO, Correa L y Gallo JE.

37. **18:30 hs** Comparación de escalas de difusión intraocular
Barrionuevo P, Zuluaga H, Issolio L, Pujol J y Colombo E.

38. **18:40 hs** Estudio poblacional sobre causas de impedimento visual en la localidad de Tinogasta, Catamarca, Argentina.
Ruartes CA, Latino SG, Gramajo AL, Yadarola MB, Juárez CP y Luna JD.

18:50 hs **CONFERENCIA** Van C. Lansingh, MD, PhD. La Epidemiología Oftálmica para determinar políticas de Salud Pública. Coordinador Regional de VISIÓN 2020 LA.

19:20 hs **ASAMBLEA**

20:00 hs **CIERRE DEL CONGRESO**

Ontogenia de factores de transcripción, opsinas, y factores regulatorios de las cascadas de fototransducción en retina de pollo

Verra DM, Contín MA y Guido ME.

Dpto. Química. Biológica-CIQUIBIC- Fac. Cs. Qcas.- Universidad Nacional de Córdoba- mail: dverra@mail.fcq.unc.edu.ar

Introducción: La fotopercepción no visual en la retina, es llevada a cabo por una subpoblación intrínsecamente fotosensible de Células Ganglionares de la Retina (CGRif). Estas células expresan el fotopigmento Melanopsina, y presentan características comunes con los fotorreceptores rabdoméricos, presentes en invertebrados; estos fotorreceptores presentan fuertes diferencias con los fotorreceptores ciliados (conos y bastones), a nivel de especialización de membrana y componentes de las cascadas de fototransducción. Resultados de nuestro laboratorio indican que las CGRs de pollo son fotosensibles actuando a través de una cascada de fototransducción similar a la de invertebrados. (Contín et al., 2006).

Objetivos: investigar la expresión de diversos ARNm involucrados en especificación (factores de transcripción), mecanismos de fototransducción de invertebrados y vertebrados en retina y cultivos primarios de CGRs, desde estadío embrionario 4 hasta estadío post-natal 10. Los ARNm analizados fueron: a) Factores de transcripción Pax6, Brn3 y CRX, b) fotopigmentos clásicos (rodopsina y opsina roja) y fotopigmentos no visuales (melanopsina similar a Xenopus, e isoforma similar a mamífero), c) las transducinas tipo proteína G participantes en ambas cascadas (α-trans y Gq).

Metodos: Se estudiaron dichos transcriptos en cultivos de CGR inmunopurificados de 8 días y en retina total a distintos estadios del desarrollo, por RT-PCR y RT-PCR en tiempo real.

Resultados: Se observó una aparición temprana (día embrionario 4-5) de los transcriptos involucrados en el desarrollo, especificación y función de las CGRs (Pax 6, Brn3, Transducina tipo Gq, melanopsina M.). Aquellos transcriptos relacionados al desarrollo de fotorreceptores clásicos o a la visión (Crx, transducina tipo α, opsina roja, rodopsina) aparecen más tarde en el desarrollo (E8 en adelante). Los cultivos de CGR al estadío E8 muestran un patrón diferencial en los transcriptos respecto a retina total de pollo adulto.

Conclusiones: Los resultados sugieren que en estadíos embrionarios tempranos de la retina de pollo, osciladores, fotopigmentos y elementos de la cascada de fototransducción de invertebrados podrían converger en la población de CGRs. Esta evidencia indicaría un interesante paradigma evolutivo, ya que estas células conservan caracteres de células ancestrales de invertebrados, siendo fotosensibles y funcionales desde estadíos tempranos, antes de que el proceso de visión pudiera ocurrir.

Regulación fótica del sistema circadiano: mecanismo de fototransducción de CGR.

Contín, M A[1], Salvador G[2], Ilincheta M[2], Giusto NM[2] and Guido, ME[1].

[1]CIQUIBIC (CONICET) – Dpto. Qca Biol., Fac. Cs. Químicas, NC-Córdoba;
[2]INIBIBB-UNS, Bahia Blanca. mcontin@mail.fcq.unc.edu.ar

Introduccion:
El sistema circadiano de los vertebrados está compuesto por osciladores (relojes) que regulan la fisiología y el comportamiento de los organismos. El núcleo supraquiasmático hipotalámico (NSQ) es el reloj central que regula las funciones fisiológicas de los osciladores periféricos presentes en diversos tejidos y además los sincroniza con las condiciones ambientales externas.
La retina es un componente clave en el sistema circadiano ya que es el órgano encargado de receptar las condiciones ambientales de iluminación y transmitirlas al NSQ a través del tracto retino-hipotalámico.
En los últimos años se ha demostrado que no solo conos y bastones tienen la capacidad de ser fotosensibles, sino que un pequeño número de células ganglionares retinales (CGR) que proyectan al NSQ pueden percibir luz generando así respuestas en el sistema circadiano.
El objetivo de nuestro trabajo es estudiar en detalle el mecanismo molecular de fototransducción de las CGR.
Nuestros y otros estudios demuestran que la naturaleza bioquímica de la fototransducción de las CGR involucra una cascada de fosfoinositidos similar a la conocida para los fotorreceptores de invertebrados (células rhabdomericas). Actualmente se conoce que la luz activa proteínas G de la familia Gq/11, las cuales activan la enzima fosfolipasa C (PLC) incrementando luego los niveles de Ca+2 intracelulares con la consecuente depolarización de la célula. Sin embargo aun no se conocen en detalles todos los eventos moleculares del mecanismo de fototranduccion de las CGR.
Objetivos específicos: verificar la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis de fosfoinositidos activados por PLC.
Métodos: Se midió la formación de Inositol 3,4,5 trifosfato (IP3) y otros inositoles por columnas de cromatografia Dowex en cultivos primarios de CGR de pollo expuestos a luz blanca fría por diferentes tiempos. Este ensayo permitió evaluar la actividad de la fosfolipasa C específica para PIP2. Luego se midieron las actividades de enzimas involucradas en la fosforilación de fosfatidilinositolfosfato (PIP), fosfatidilinositol bifosfato (PIP2) y diacilglicerol (DAG), denominadas PI quinasa (PIK), PI fosfato quinasa (PIPK) y DAG quinasa (DAGK).
Resultados: Los resultados muestran un incremento de IP3 de 1.3 veces en función del estimulo lumínico y una estimulación de entre dos y tres veces en las actividades de las PIK, PIPK y de la DAGK a partir de los cinco segundos de estimulación luminica.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que en la fototranducción de las CGR de pollo esta involucrada una cascada de fosfoinositidos con una regulación de activación de las enzimas de la síntesis de los mismos durante los primeros segundos de estimulación.

Respuestas de una línea inmortalizada de células ganglionares retinales de mamíferos al ATP y a la luz.

Nieto, P.S.; Acosta Rodríguez V. A.; Guido M. E.
CIQUIBIC- Fac. de Cs. Qcas. Departamento de Química Biológica- UNC. Córdoba

Introducción: Las células RGC-5 constituyen una nueva línea celular derivada de células ganglionares de retina (CGRs) de ratas postnatales. Estas células expresan marcadores clásicos de células ganglionares retinales como Thy-1 y Brn 3c entre otros.
Objetivos: Estudiar las RGC-5 como potenciales células fotosensibles.
Métodos: Evaluamos la inducción de la proteína c-Fos en respuesta a un pulso de luz blanca fría de 1000 lux durante 30 minutos, mediante Western Blot. Además, medimos cambios en la concentración de calcio intracelular, mediante microscopía de fluorescencia con FURA-2, en respuesta al agregado de ATP y a pulsos de luz blanca (30 seg).
Resultados: Los pulsos de luz blanca fría en las RGC-5 sincronizadas produjeron una inducción de la proteína c-Fos en todas las condiciones medidas. Este efecto pareciera independiente de la adición de precursores del cromóforo (derivados de la vitaminaA) al medio de cultivo.
Por otra parte, no se detectaron cambios significativos en las concentraciones de calcio intracelular como respuesta a los pulsos de luz blanca. Sin embargo las respuestas frente al agregado de ATP (100 uM) se pudieron clasificar en tres grupos: respuestas intensas, débiles y nulas.
Además, encontramos grandes diferencias a nivel morfológico dentro de esta línea celular.
Discusión: Las diferencias a nivel morfológico y las distintas respuestas frente al ATP podrían sugerir la existencia de diferentes subpoblaciones dentro de esta línea celular en teoría homogénea.
Se deberá examinar si las respuestas de c-Fos observadas frente a los pulsos de luz estan relacionadas a fototoxicidad o fotopercepción intrínseca de las RGC-5.

DISTRIBUCION DE LOS RECEPTORES CB2 EN LA RETINA DE RATA Y SUS MODIFICACIONES LUEGO DE ILUMINACION CONTINUA.

López EM.[1], Tagliaferro AP.[1], Onaivi ES.[2] y López-Costa JJ.[1].
[1]Instituto de Biología Celular y Neurociencia ¨Prof. E. De Robertis¨; Facultad de Medicina, UBA-CONICET, Buenos Aires, ARGENTINA. [2]William Patterson University,Wayne, New Jersey 07470, USA.

Los canabinoides actúan sobre dos tipos de receptores acoplados a proteínas G denominados CB1 y CB2. En la retina, los receptores CB1 se han reportado en células bipolares, amácrinas gabaérgicas, horizontales y en la capa plexiforme interna. Empleando RT-PCR, el ARNm de CB2 fue descripto en los fotorreceptores (FR), capa nuclear interna y capa de ganglionares.

Objetivo: Localizar el receptor CB2 en la retina de rata usando inmunocitoquímica y estudiar los cambios del mismo luego de iluminación continua (IC).

Métodos: Se emplearon ratas Sprague Dawley controles (n=2) y otras sometidas a IC (12000 lux) durante 1, 2, 5 y 7 días (n=8). 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 PAP empleando un anticuerpo policlonal de conejo anti-CB2.

Resultados: En animales CTL se observó inmunoreactividad para CB2 (IR-CB2) en el epitelio pigmentario (EP), en los segmentos internos de FR, en células horizontales, en amácrinas, en la plexiforme interna y en células de la capa ganglionar. La IR-CB2 persiste en el EP luego de 1 día de IC pero no se observa en estadíos posteriores. La IR-CB2 desaparece en FR y en horizontales pero persiste en amácrinas y células de la ganglionar en todos los estadíos de IC.

Conclusiones: Los resultados en animales CTL coinciden con la descripción previa realizada con RT-PCR, sin embargo, agrega la observación de CB2 en el EP, el cual tiene gran importancia en la fisiología y el mantenimiento de los FR. Postulamos que es posible que el receptor juegue un papel en la protección al daño pero la iluminación excesiva destruye el epitelio provocando la degeneración de los FR. En la retina interna, CB2 podría modular la neurotransmisión, pero se necesitan más estudios para aclarar el papel fisiológico y patológico de este receptor en el órgano (Subsidiado por CONICET PIP 5785).

Efecto del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) sobre la activación de Metaloproteinasa-2 (MMP-2) en células gliales de Müller.

Lorenc VE, Barcelona PF, Ortiz S, Chiabrando GA, Sánchez MC.
CIBICI (CONICET)-Dpto de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas.
Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
E-mail: valelorenc@yahoo.com.ar

Introducción. IGF-1 tienen una activa participación en la patogénesis de la neovascularización retinal producida durante la Retinopatia de la prematurez (ROP) y la Retinopatía Diabética Proliferativa (RDP). Se ha demostrado que IGF-1 induce la expresión de integrinas y proteasas involucradas en la migración y proliferación de células endoteliales. Además, se conoce que las células de Müller (CM), principales células gliales de la retina, cumplen un rol crucial en las enfermedades retinales proliferativas al producir el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). También, las CM sintetizan y secretan metaloproteinasas (MMPs), principalmente MMP-2 y MMP-9, que participan en la remodelación de la matriz extracelular durante los eventos neovasculares. Sin embargo, los mecanismos moleculares y bioquímicos que regulan esta producción de MMPs no esta lo suficientemente esclarecida. En este trabajo se evaluó el efecto de IGF-1 sobre la inducción de MMPs por IGF-1 en una línea de células gliales humanas inmortalizadas, células de Müller (MIO-M1).

Materiales y métodos. Se utilizaron cultivos de MIO-M1 en DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB). Las células fueron depletadas de SFB 12 h previo a la estimulación con IGF-1 (10 nM) durante diferentes intervalos de tiempo (2-24 hs). Posteriormente alícuotas de los sobrenadantes de estos cultivos fueron analizadas por ensayos de zimografía en EGPA-SDS-gelatina (1,5 mg/ml). Para analizar las vías de señalamiento intracelulares, las células depletadas de SFB fueron estimuladas con IGF-1 (10 nM) durante diferentes intervalos de tiempo (1 min a 60 min). Luego, los extractos proteicos de los lisados celulares fueron analizados por Western blot para ERK1/2 y Akt fosforilados.

Resultados. Mediante zimografías se observó que IGF-1 induce un incremento en la actividad de MMP-2, mientras que la actividad de MMP-9 no fue modificada. Por ensayos de Western Blot demostramos que IGF-1 produce una rápida activación (a partir de 1 min) de la vía de MAPK-ERK1/2. Finalmente, la activación de MMP-2 inducida por IGF-1 fue bloqueada por el inhibidor de MEK-1 PD98059.

Conclusión. En este trabajo se demostró que IGF-1 regula la actividad proteolítica de MMP-2 en las células de Müller, sugiriendo que la esta regulación está mediada por la vía MAPK-ERK1/2.

LAS CELULAS DE MULLER Y EL ACIDO DOCOSAHEXAENOICO PROMUEVEN EL MANTENIMIENTO DE NEUROBLASTOS Y SU DIFERENCIACION EN FOTORRECEPTORES DE RETINA

Simón MV, Rotstein NP y Politi LE.
Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), CONICET-Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.

Introducción: Las enfermedades neurodegenerativas de la retina se caracterizan por la muerte generalizada de fotorreceptores (FRs). Recientemente se ha propuesto que las células gliales de Müller jugarían un rol importante en la regeneración de la retina. Sin embargo, se desconocen los factores que promueven su proliferación y diferenciación en FRs.

Objetivos: Identificar factores celulares y moleculares que promueven la generación y mantenimiento de neuroblastos (NB) y la expresión de marcadores de FRs.

Metodología: Cultivos secundarios obtenidos de cultivos gliales o neuonales puros, o de cocultivos neurogliales de retina de rata se incubaron en medios suplementados o no con suero o ácido docosahexaenoico (DHA), ácido graso poliinsaturado que promueve la supervivencia de FRs. Una vez fijados, se determinó la presencia de marcadores de células progenitoras (Nestina e incorporación de BrdU) y la expresión de marcadores de FRs (opsina y Crx).

Resultados: En subcultivos provenientes de cultivos gliales puros no se observaron NB ni marcadores de FRs, mientras que los cultivos neuronales puros no sobrevivieron al repique. Sin embargo, en los pasajes de cocultivos neuro-gliales se observó que un 30% de las células fueron Crx positivas, aumentando a más del 60% con el agregado de DHA. Alrededor del 1% fueron NB que incorporaron BrdU; expresaron Nestina; o co-expresaron BrdU y Crx, indicando que se generaron por mitosis en los subcultivos para luego diferenciarse como FRs. El agregado de DHA redujo un 50% la muerte celular en los pasajes, aumentó 30% el número de células BrdU positivas que co-expresaron Crx y promovió el desarrollo de axones.

Discusión: Estos resultados sugieren que la interacción neuro-glial es clave en el mantenimiento y/o generación de NB en los cultivos secundarios, y que el DHA permitiría su supervivencia y posterior diferenciación en FRs.

Subsidiado por SECYT (UNS), CONICET, FONCYT

VIDRIOS OSCURECIDOS EN LOS AUTOMÓVILES: ¿UNA REDUCCIÓN EN LA VISIÓN COMPARABLE A VALORES CLÍNICOS?

Javier Santillán, Andrés Martín, Pablo Barrionuevo
Departamento de Luminotecnia Luz y Visión, Universidad Nacional de Tucumán, Av. Independencia 1800 (4000) Tucumán, Argentina. jsantillan@herrera.unt.edu.ar; pbarrionuevo@herrera.unt.edu.ar

Introducción: Según las estadísticas el número de vehículos con vidrios laterales y traseros oscurecidos continúa en aumento en Argentina. Esto viene provocando un intenso debate acerca de la incidencia de dicho oscurecimiento en la visión de los conductores y su influencia en la generación de accidentes de tránsito.

Objetivos: Evaluar los efectos en la visión funcional de los conductores de dos tipos de películas utilizadas para el oscurecimiento de los cristales automotores. Se escogieron dos modelos de uso corriente en el mercado nacional. Sus transmitancias fueron: 42% (tonalidad media) y 10% (tonalidad oscura).

Metodología: se midió la Función de Sensibilidad al Contraste (FSC) a 9 sujetos jóvenes (29 ± 6 años) mediante un sistema informatizado que presentaba los estímulos en un monitor calibrado (luminancia media de 70 cd/m^2). La evaluación fue monocular y en tres condiciones: (1) vidrio estándar (transmitancia del 82%), (2) vidrio estándar + filtro medio y (3) vidrio estándar + filtro oscuro. Los estímulos fueron redes sinusoidales estáticas de 1, 2, 4, 8, 12 y 24 ciclos/grado con un tiempo de presentación de 500 ms en su contraste nominal.

Resultados: el ANOVA muestra diferencias significativas con la condición de control para las frecuencias de 4, 8, 12 y 24 c/gr ($p < 0.02$ en todos los casos). El test de Tukey muestra que las diferencias se deben al filtro con transmitancia del 10%. Al ser confrontados con la curva de normalidad del equipo para observadores de 20 a 40 años de edad, los datos obtenidos se encuentran por debajo de los valores normales.

Discusión: las películas utilizadas para modificar la transparencia de los vidrios automotores tienen un efecto negativo en la percepción del entorno. En el caso del filtro oscuro, el grado de afección de la FSC en personas jóvenes con visión normal es tal que implica una severa disminución de la visibilidad. Por lo tanto, en condiciones de exigencia visual su uso puede incrementar notablemente el riesgo de accidentes.

ANTICUERPO ANTI-GALECTINA-1 EN PACIENTES CON PARS PLANITIS

Garcia LG[1], Muiño JC[2], Romero M[3], Rabinovich G[4], Pusterla JP[1], Luna JD[1], Juárez CP[1].

[1]Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina.

[2] Departamento de Medicina Interna UAHMI N ° 4 Fac Cs Med UNC – [3]LIIDO;

[4]División Inmunogenética, Facultad de Medicina UBA.

Email: lu_gar@hotmail.com; cpj@fibertel.com.ar

Introducción: Galectina–1 (Gal-1), una galectina endógena, juega un rol crítico en la regulación de la respuesta inmune. Nuestro grupo ha demostrado previamente la presencia de anticuerpos anti-gal-1 en pacientes con uveítis (ARVO, 2006).

Propósito: El propósito de este estudio es evaluar la presencia de estos autoanticuerpos en pacientes con Pars planitis.

Materiales y Métodos: 17 pacientes diagnosticados con Pars planitis, fueron seguidos en forma prospectiva por 5 años. En dichos pacientes se dosaron los anticuerpos específicos anti-gal-1 del tipo IgG, IgA e IgE por ELISA y se los comparó con una población sana (n: 14).

Resultados: Los anticuerpos anti-galectina-1 tanto del tipo IgG como IgE estaban aumentados en los pacientes afectados por Pars planitis en comparación con la población control. La presencia de anticuerpos específicos IgA contra Gal–1 solos (n: 1) o en conjunto con IgG e IgE anti-Gal–1 (n: 12) presentaban una buena evolución clínica (n: 13), $p<0.001$. La ausencia de anticuerpo de tipo IgA y la presencia de los tipos IgG e IgE se asoció a un peor pronóstico clínico de la enfermedad.

Conclusión: Este resultado demuestra el valor específico de los anticuerpos específicos tipo IgG e IgE anti-Gal–1 en el work-up de los pacientes con Pars Planitis. Este estudio sugiere que los anticuerpos anti-Gal–1 del tipo IgG e IgE están asociados con un peor pronóstico clínico mientras que los anticuerpos del tipo IgA se asocian a un mejor pronóstico visual de estos pacientes.

PREVALENCIA Y CAUSAS DE CEGUERA Y BAJA VISIÓN EN UNA POBLACIÓN URBANA DE PARAGUAY

Jure Vallejos DR, Peña FY, Samudio M, Ocampos J. Fundación Visión. Asunción, Paraguay

Introducción: Acorde a la OMS, en el 2.002, existían 124 millones con baja visión y 37 millones con ceguera. Es necesaria la información precisa de salud ocular, conociendo las causas de enfermedades y factores de riesgo, podremos determinar programas de detección y tratamiento, servicios de rehabilitación y la distribución de recursos humanos y económicos.

Objetivo: Determinar la prevalencia y las causas principales de ceguera y baja visión en una población urbana de Paraguay.

Método: Estudio transversal poblacional en mayores de 40 años, elegidos de manera aleatoria por conglomerados. Previa firma de consentimiento informado, fueron invitados para una entrevista y examen oftalmológico completo incluyendo toma de agudeza visual con cartilla de Snellen, refracción, biomicroscopía y examen de fondo de ojo. Se utilizaron definiciones de la OMS para ceguera y baja visión.

Resultados: Se examinaron 402 participantes, corresponde a un 92.2 % de la muestra calculada. La prevalencia de ceguera y baja visión ajustadas a la edad y el sexo fue de 1.2 (IC 95%=0.1 – 2.3), y 11.1 (IC 95%= 8.0 – 14.2) respectivamente. La prevalencia conjunta de ceguera y baja visión ajustada a edad y sexo fue de 12.3 (IC 95%= 9.0 – 15.6). La prevalencia de ceguera y baja visión conjuntas aumentó de manera progresiva con la edad desde 5.4% en el grupo de 40 a 45 años, hasta 21.4% para el grupo de 80 y más años. La catarata fue la causa más frecuente de ceguera con 80%, y la principal causa de baja visión fueron los errores refractivos con 56.9% seguidos de catarata con 35.3%.

Discusión: Comparado con otro estudio nacional, la prevalencia de ceguera en nuestro estudio es menor, pero la de baja visión es prácticamente la misma. Según la clasificación de la OMS, estudios como BES, LALES, SEE y otros presentan prevalencias inferiores a 2% para ceguera, y comparando baja visión presentamos una mayor prevalencia (12,7%).

juredavid@hotmail.com

ESTUDIO PRELIMINAR DE FLUJO VASCULAR EN TUMORES Y SEUDOTUMORES COROIDEOS

Gentile CM 1, Dovasio MF 2, García MM 3, Lombardi A 4, Croxatto JO 5 .
1 Unidad Oncología Ocular, Servicio de Oftalmología, Hospital Italiano, Buenos Aires.
2 Unidad Ecografía y Ecografía Doppler. Servicio de Diagnóstico por Imágenes. Hospital Italiano, Buenos Aires, Argentina. 3 Residencia en Oftalmología. Unidad Oncología Ocular, Servicio de Oftalmología, Hospital Italiano, Buenos Aires.
4 Servicio de Retina Clínica y Quirúrgica. Hospital Italiano, Buenos Aires. Unidad Oncología Ocular, Servicio de Oftalmología, Hospital Italiano, Buenos Aires.
5 Unidad Oncología Ocular, Servicio de Oftalmología, Hospital Italiano, Buenos Aires. Laboratorio de Patología Ocular, Hospital Italiano, Buenos Aires.
Lugar de realización del trabajo: Hospital Italiano de Buenos Aires

Objetivo: El propósito del estudio es describir y analizar los hallazgos hemodinámicos en los tumores coroideos pre y post-tratamiento y en pseudotumores utilizando ecografía doppler color y pulsado de alta resolución. **Métodos:** Nueve pacientes (mujeres, rango de edad entre 38 y 86 años) con diagnóstico presuntivo de tumores coroideos y lesiones pseudotumorales fueron incluidos. Se realizó examen oftalmológico completo y Ecografía doppler color y pulsado de alta frecuencia (6- 18 mHz) y alta resolución para valorar las lesiones, y de menor frecuencia (3 – 9 mHz) para realizar el examen doppler. Las imágenes ecográficas modo B y doppler, fueron obtenidas con el equipo ESAOTE My Lab 70 vision, Italia. El análisis de la vascularización intralesional y el análisis de doppler pulsado en las regiones vasculares intratumorales y en la base tumoral se realizó utilizando valores estimados de velocidad de flujo vascular en sístole y en diástole e índice de resistencia (sistólico-diastólico/sistólica). **Resultados:** Se observó flujo vascular masivo en un paciente con Melanoma de coroides no tratado (velocidad de vascularización intratumoral 45.5 cm/seg., índice de resistencia (IR) 0.54) que luego de 4 meses del tratamiento disminuyó la vascularización (IR 0,7). En los otros 2 pacientes con melanomas tratados se observó vascularización intratumoral (velocidad de flujo 35,5 cm/seg, IR 0,66) coincidente con aumento de tamaño tumoral, con lo cual se indicó un segundo tratamiento. En los pacientes con nevus coroideos no se observó vascularización intratumoral, solamente en la base (coroides) con una velocidad de flujo de 14,7 a 15,5 cm/seg, IR 0.63. En los pacientes con opacidad de medios con diagnóstico presuntivo de hematoma coroideo vs melanoma el estudio no demostró vascularización intratumoral, sólo vascularización en base tumoral de velocidad 14,8 cm/seg, IR 0,69 y en la superficie (retina). **Conclusiones:** La ecografía doppler color y pulsado es una técnica útil para el diagnóstico diferencial entre hematoma coroideo y melanoma avanzado en pacientes con opacidad de medios, pudiendo cuantificar la vascularización en la base tumoral e intratumoral (melanoma). También se puede utilizar como herramienta adicional para el diagnóstico diferencial entre nevus coroideo y melanoma como también para el monitoreo de la efectividad del tratamiento conservador en pacientes con melanoma de coroides. Sería de utilidad nuevos estudios para estandarizar los índices evaluados y correlacionarlo con la patología oftalmológica.

NUEVA TECNICA HISTOLÓGICA DIGITAL PARA LA REPRESENTACIÓN DE LA CIRCULACION DEL HUMOR ACUOSO EN EL SENO CAMERULAR.

Zárate Jorge O, Racca M Lourdes ,Sampaolesi Roberto.
Lab. de Inv. Oftalmol y Vis(LIOCIV) Centro de Patología Experimental (CPE) Dpto de Patología.Fac. de Medicina (UBA).

OBJETIVOS: Poder mejorar con el uso de técnicas digitales desarrolladas en nuestro Laboratorio, el conocimiento histofuncional del drenaje del humor acuoso en controles normales (tejido de segmento anterior de enucleaciones por tumores intraoculares (TIO), sin glaucoma y trabeculectomías ampliadas o iridotrabeculectomías (ITRA) en Glaucoma primario de ángulo abierto(POAG).

MATERIAL Y METODOS: Se Estudiaron 10 Controles y 10 ITRA en 20 Pacientes, 10 de Sexo Masculino y 10 Femenino.-La edad media fué de 56 años. Cada corte del seno camerular o ángulo iridocorneal incluían colgajo corneoescleral,membrana de Descemet (al menos 200 micras),línea de Schwalbe, rabeculado uveal, trabeculado corneoescleral, tejido yuxtacanalicular, conducto de Schlemm, espolon escleral, fibras del músculo ciliar y raíz de iris cómo mínimo. Coloreados con Hematoxilina y eosina (H-E), luego digitalizada la imagen y siguiendo nuestra técnica de conversion y animación digital se represento la circulación del humor acuoso.

RESULTADOS: La diferencias entre los controles normales (no glaucomatosos) y los que tenían POAG fueron definidas, en cuanto a la forma de circulación digital y las dificultades para llegar a la circulación completa ante una cantidad de impulso determinada.

CONCLUSIONES: El uso de nuevas técnicas, en base al uso de los programas fotográficos comunes usados en computación aplicados a preparados coloreados con H-E, permite a través de imágenes empíricas secuenciar los pasos de la circulación del humor acuoso.

EFECTO TERAPEUTICO DE LA MELATONINA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE GLAUCOMA.

de Zavalía N, Moreno MC, Keller Sarmiento MI, Rosenstein R.
Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA, CEFyBO-CONICET.
nuriaz@gmail.com

Introducción: El glaucoma, una de las causas principales de ceguera, se correlaciona con la muerte de células ganglionares retinianas y atrofia de la cabeza del nervio óptico. La disminución de la PIO es por ahora la terapia de elección. Sin embargo, en muchos casos la disfunción visual persiste o progresa luego de su restauración a valores normales. Hemos desarrollado un modelo experimental de glaucoma en ratas a través de inyecciones semanales de ácido hialurónico (AH) en la cámara anterior del ojo. Hemos demostrado que la hipertensión ocular crónica inducida por AH provoca una alteración significativa en el ciclo glutamato/glutamina y en la neurotransmisión GABAérgica, así como un aumento significativo en la actividad del sistema nitridérgico y una disminución en la actividad del sistema de defensa antioxidante endógeno retiniano. En consecuencia, la disfunción en la neurotoxicidad del glutamato, la disminución de los niveles de NO, el aumento en la neurotransmisión retiniana GABAérgica y la manipulación del estado redox intracelular usando antioxidantes podrían ser una estrategia terapéutica para prevenir la muerte celular glaucomatosa. Asimismo, evidencias experimentales sugieren que la melatonina es un potente antioxidante y antinitridérgico, previene la neurotoxicidad del glutamato y aumenta la actividad GABAérgica. **Objetivo:** analizar el efecto de la melatonina sobre la disfunción retiniana inducida por inyecciones crónicas de AH. **Métodos:** se implantó un pellet de melatonina subcutáneo de 20 mg dos horas antes de la primera inyección de AH, y se repitieron las inyecciones de AH una vez/semana. El pellet de melatonina se reemplazó cada 15 días. Luego de 6 ó 10 semanas de hipertensión ocular, se examinó la morfología retiniana y se determinó la función retiniana por electrorretinografía. **Resultados:** La melatonina previno significativamente la disfunción retiniana así como la disminución en el número de células ganglionares retinianas inducidas por hipertensión ocular. **Conclusión:** La melatonina, que carece de efectos secundarios significativos incluso en las altas dosis, podría ser un recurso promisorio en el tratamiento del glaucoma.

ESTUDIO DEL EFECTO TERAPÉUTICO DE LA NEUROTOMÍA OPTICA RADIAL EN UN MODELO DE GLAUCOMA EXPERIMENTAL INDUCIDO POR LA CAUTERIZACIÓN DE VENAS EPIESCLERALES.

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

Introducción: El glaucoma es una disfunción ocular caracterizada por la pérdida progresiva de las funciones visuales, asociada a la muerte de células ganglionares y atrofia de la cabeza del nervio óptico. Shareef y col. describieron un modelo experimental de glaucoma inducido por la cauterización de las venas epiesclerales, lo que provoca un aumento en la presión intraocular (PIO), disfunción retiniana y pérdida de células ganglionares. La neurotomía óptica radial (NOR), una estrategia quirúrgica que se utiliza para el tratamiento de la trombosis de la vena central de la retina, consiste en la sección en profundidad de la cabeza del nervio óptico, con el objeto de descomprimir el canal escleral y mejorar el flujo sanguíneo arterial y venoso.
Objetivo: Trabajos previos demostraron la efectividad terapéutica de la NOR en un modelo de glaucoma inducido por inyecciones crónicas de ácido hialurónico. El objetivo de este trabajo fue analizar los beneficios terapéuticos de la NOR en el modelo de glaucoma en ratas inducido por la cauterización de las venas epiesclerales.
Metodología: Se cauterizaron tres venas epiesclerales de ambos ojos de ratas *Wistar* macho adultas. La NOR se realizó en un ojo de cada animal 5 días antes (tratamiento preventivo) ó 5 días después (tratamiento terapéutico) de la cauterización. Se evaluó la función retiniana (por electrorretinografía (ERG) escotópica y se determinaron los potenciales occipitales evocados (VEP) en ambos ojos a los 30 días de hipertensión ocular.
Resultados: La NOR no afectó el aumento de la PIO inducido por la cauterización de las venas epiesclerales. Sin embargo, la NOR redujo la caída inducida por hipertensión ocular en la amplitud de la onda a ($p < 0.05$) y b ($p < 0.05$) del ERG, así como de la onda 4 del VEP ($p < 0.05$), tanto en el tratamiento preventivo como en el terapéutico.
Discusión: Estos resultados avalan la potencialidad del uso de la NOR como nueva estrategia quirúrgica en el tratamiento del glaucoma.

Expresión inmunohistoquimica de GFAP y RAGE en la retina de tres modelos animales distintos de diabetes.

J.E. Mancini[1], J.C. Basabe[2], O.J. Croxatto[3], J.E. Gallo[1].
[1]Facultad de Ciencias Biomedicas, Universidad Austral Pilar, Buenos Aires, Argentina;
[2]Endocrinology, Centro de Investigaciones Endocrinológicas, Buenos Aires, Argentina;
[3]Oftalmo Patólogo, Fundación Oftalmológica Argentina Jorge Malbran", Buenos Aires, Argentina.

Objetivos: Comparar la expresión inmunohistoquímica de la proteína gliofibrilar acida de la retina (GFAP) y el receptor de los productos finales de la glicosilacion (RAGE) en la retina de tres modelos animales de retinopatía diabética.
Metodos: Dos grupos de 4 ratas Wistar, desarrollaron diabetes tipo 2 por medio de la inyección de estreptozotocina (STZ) IP en dosis de 90 y 45 mg/kg al segundo día de vida. El grupo con la dosis menor recibió una dieta alta en grasa (DAG) a partir de la 8a semana de vida. El tercer grupo de 4 ratas adultas (Sprague Dawley, 250 gr. de peso) desarrolló diabetes tipo 1 por medio de la inyección de STZ IP de 45mg/kg. Los animales fueron sacrificados luego de 37 semanas de enfermedad, junto a sus controles sanos de misma edad y sus retinas analizadas por medio de inmunohistoquimica usando anticuerpos anti GFAP y RAGE.
Resultados: La inmunomarcación de GFAP fue mayor en los animales diabéticos que en los controles encontrando mayor marca a nivel de capa de fibras. La distribución de la inmunomarcación en la capa de fibras y en las células con morfología similar a las células de Müller fue mayor en las retinas de animales con DBT1. RAGE mostro una inmunomarcación aumentada en la capa de fibras y en la capa de células ganglionares en animales diabéticos. Sin embargo se vio mayor marca en la capa nuclear interna solo en animales diabéticos tipo 1 y 2 c/DAG.
Conclusiones: La diferencia en la localización e intensidad en la inmunomarcación de GFAP y RAGE en los diferentes modelos de diabetes podría ser útil para una mejor comprensión de los procesos de estrés oxidativo en la fisiopatología de la retinopatía diabética.

Expresión inmunohistoquímica de TNF-α y VEGF en la retina de tres modelos animales distintos de diabetes.

J.E. Gallo[1], J.E. Mancini[1], J.C. Basabe[2], J.O. Croxatto[3].
[1]Ophthalmology, Hospital Universitario Austral, Pilar, Argentina; [2]Hospital Municipal "Ricardo Gutierrez", Centro de Investigaciones Endocrinologicas, Buenos Aires, Argentina; [3]Pathologia ocular, Fundación Oftalmológica Argentina "Jorge Malbran", Buenos Aires, Argentina.

Objetivo: Comparar la expresión de el Factor de Necrosis Tumoral-α (TNF-α) y Factor Estimulante del Endotelio Vascular (VEGF) a nivel retinal de tres modelos de diabetes experimental.

Metodos: Dos grupos de 4 ratas Wistar, desarrollaron diabetes tipo 2 por medio de la inyección de estreptozotocina (STZ) IP en dosis de 90 y 45 mg/kg al segundo día de vida. El grupo con la dosis menor recibió una dieta alta en grasa (DAG) a partir de la 8a semana de vida. El tercer grupo de 4 ratas adultas (Sprague Dawley, 250 gr. de peso) desarrolló diabetes tipo 1 por medio de la inyección de STZ IP de 45mg/kg. Los animales fueron sacrificados luego de 37 semanas de enfermedad, junto a sus controles sanos de misma edad y sus retinas analizadas por medio de inmunohistoquimica usando anticuerpos anti TNF-α y VEGF.

Resultados: TNF-α y VEGF presentaron un incremento de la marcación en los animales diabéticos en comparación con los controles. Los tres grupos de diabéticos tuvieron inmunoreactividad positiva en la capa de fibras para TNF-α, mientras que solo los grupos de DBT-1 y DBT-2 s/ DAG se expresaban en la capa plexiforme externa y epitelio pigmentario de la retina. VEGF tenía inmunoreactividad positiva a nivel de la capa de fibras de los 3 grupos y además en la capa plexiforme interna de los animales con DBT1 y DBT2 c/DAG.

Conclusiones: Las diferencias en la expresión del VEGF y del TNF-α podrían ser manifestaciones de procesos inflamatorios o isquémicos, pudiendo hacer posible entender mejor los mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo de la retinopatía diabética.

EVALUACIÓN DE COMPLEJOS POLÍMERO CATIÓNICO-FÁRMACO. INCREMENTO DE LA PERMEACIÓN TRANSCORNEAL DE FLURBIPROFENO.

Quinteros DA, Tartara LI, Maletto B, Palma SD, Manzo RH y Allemandi DA
Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba – CONICET
E-Mail: dalemand@fcq.unc.edu.ar

Introducción: Como parte de un proyecto de desarrollo de sistemas portadores de fármacos, se prepararon materiales Polielectrolito-Fármaco (PE-F) mediante la interacción ácido-base entre un polímero catiónico y un fármaco ácido. Las propiedades en solución de estos sistemas han sido ampliamente evaluadas y se destacan, entre ellas, la alta capacidad de aumento de solubilidad aparente de fármacos, muy poco solubles en agua, como así también la propiedad de liberar el fármaco de manera prolongada en el tiempo.

Objetivos: El objetivo del presente trabajo fue evaluar in vitro el Coeficiente de permeabilidad aparente (**P_{app}**) de flurbiprofeno acomplejado con un polímero catiónico, en forma comparativa con una formulación comercial. Paralelamente, se evaluó el posible efecto irritante sobre el sitio de aplicación mediante inspección visual y estudios histológicos de cornea.

Materiales y Métodos: A) Materiales: polímero catiónico, Flurbiprofeno (F) Lauril Sulfato de Sodio (LSNa), Cloruro de Sodio (NaCl). Formulaciones estudiadas: Soluciones isotónicas de F al 0.1% y 0.9% (P/V) NaCl – polímero catiónico 0.28% P/V. Formulación control: Tolerane® 0.1%, LSNa 2%. Animales: conejos albinos tipo New Zeland de 1 a 2 kg de peso. B) Métodos: Estudios permeación transcorneal in vitro utilizando celdas bicompartimentales. Irritación ocular: se observó mediante biomicroscopía binocular el segmento anterior del ojo del conejo, con luz blanca y filtro azul, (las posibles lesiones del epitelio corneal, conjuntival y del segmento anterior). Además se realizaron estudios histológicos para corroborar la existencia de lesiones del epitelio corneal utilizando un control positivo que provoca la lesión (LSNa al 2%).

Resultados: Se pudo observar un mayor aumento de **P_{app}** para F ($7x10^{-5}$ cm/s) a través de sistemas PE-F respecto al control comercial con un análogo de este fármaco ($1.2x10^{-5}$cm/s). No se observaron irritaciones ni lesiones irreversibles en los animales sometidos a estos estudios.

Conclusión: Los resultados muestran que los complejos PE-F promueven una mayor permeación transcorneal del F comparado con su muestra comercial, lo cual resulta auspicio para continuar con el diseño de nuevos sistemas de administración de fármacos para uso oftalmológico.

Efecto de los receptores canabinoides sobre la proliferación celular y activación de vías de estrés en células del epitelio corneal.

María Iribarne[1], Cubilla MA[1], Torbidoni AV[1], Berra A[1,2], Suburo AM[1].
Facultad de Ciencias Biomédicas[1], Universidad Austral, Pilar, B1629AHJ, Facultad de Medicina[2], Universidad de Buenos Aires, C1114AAD.

Introducción. Una superficie ocular sana refleja el control de la proliferación y de los fenómenos inflamatorios. Los endocanabinoides participan en funciones defensivas, anti-inflamatorias e inmunodulatorias. Dado que previamente identificamos receptores CB1 y CB2 en el epitelio conjuntival, evaluamos aquí el efecto de agonistas y antagonistas canabinoides sobre el crecimiento y la activación de vías de señalización inducida por Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α) en células conjuntivales.

Métodos. Se utilizaron cultivos de células IOBA-NHC que, luego de alcanzar confluencia, pasaron a medio de mantenimiento. La presencia de CB1 y CB2 fue evaluada por inmunohistoquímica, Western blot y RT-PCR. La activación de las vías de señalización fue estudiada mediante inmunohistoquímica y Western blots para JNK, fosfo-JNK, y NF-κB p-65. El crecimiento celular fue evaluado mediante la conversión de MTT. Como activador de CB1 y CB2 se utilizó CP55,940, mientras que AM251 y AM630 se aplicaron como antagonistas específicos.

Resultados: Los tres procedimientos demostraron presencia de ambos receptores en células IOBA-NHC. CP55,940 determinó un significativo aumento de la proliferación celular, dependiente de la concentración y bloqueado tanto por AM251 como por AM630. En células activadas por TNF-α se observó la aparición de inmunoreactividad fosfo-JNK y la translocación nuclear de NF-κB. Western blots demostraron que los niveles de fosfo-JNK inducidos por TNF-α eran reducidos por pre-tratamiento con CP55,940, en forma dependiente de su concentración.

Conclusiones. Demostramos expresión de CB1 y CB2 en células conjuntivales in vitro. Además, evidenciamos la participación de ambos receptores en el crecimiento de las células conjuntivales y en la regulación de vías de estrés activadas por TNF-α. Esto sugiere que el sistema endocanabinoide podría promover el mantenimiento de las barreras epiteliales en la superficie ocular.

RECEPTORES CANABINOIDES EN EL EPITELIO CORNEAL

Mariana Sgroi[1*], Marisa A. Cubilla[1], María Iribarne[1], Lorena Hansen[2], Alejandro Berra[1,2], Angela M. Suburo[1]
Facultad de Ciencias Biomédicas[1], Universidad Austral, Pilar, B1629AHJ, Facultad de Medicina[2], Universidad de Buenos Aires, C1114AAD.

Introducción. Existen dos receptores canabinoides, CB1 y CB2. Recientemente hemos demostrado que el epitelio conjuntival expresa tanto CB1 como CB2 y que su activación está asociada al crecimiento epitelial y a la regulación de vías de estrés. Evaluamos ahora la expresión de CB1 y CB2 en la córnea de ratón y su respuesta a las úlceras experimentales.

Métodos. Las úlceras fueron producidas con OHNa o raspado mecánico en ratones Balb-c machos anestesiados. Los animales fueron sacrificados 4 a 24 horas después. El segmento anterior fue inmunoteñido con anti-CB1, -CB2, y -substancia P (SP).

Resultados. La córnea normal presentó escasa inmunoreactividad CB1. Por el contrario, había alta expresión de CB2 en el epitelio limbar y en las capas corneales basal y suprabasal. Las lesiones fueron seguidas por aumento de los receptores canabinoides. CB1 apareció en la zona limbar y CB2 aumentó tanto en el epitelio limbar como en la córnea central, próxima a la zona lesionada. CB2 predominaba en las capas basal y suprabasal. También se observaron pequeñas células CB2+ en el estroma limbal. La inmunoreactividad SP de las córneas normales y lesionada era semejante.

Conclusiones. Normalmente, la descamación y reemplazo a partir de las células troncales limbares se encuentran en equilibrio. La activación proliferativa producida por la pérdida de epitelio corneal se refleja en aumento de la expresión de receptores CB1 y CB2 en las células limbares. Asimismo, se asociaría con aumento de expresión de CB2 en el compartimiento epitelial basal/suprabasal, que contiene las células de amplificación transitoria. La participación del sistema endocanabinoide a nivel corneal difiere de lo demostrado anteriormente en la conjuntiva murina y humana, donde ambos receptores parecen tener igual participación en el control de la proliferación.

[*]Becaria de la Sociedad Argentina de Oftalmología.

Dieta deficiente en acido ascórbico: Efectos en cornea de cobayo.

Cafaro T A[1], Ortiz S[1], Robles L[1], Urrets-Zavalía J A[2], Serra H M[1]
1:CIBICI Facultad de Ciencias Químicas UNC; 2: Oftalmología, Clínica Universitaria Reina Fabiola.

Objetivo. El acido ascórbico (AA) cumple múltiples funciones protectivas en el segmento anterior del ojo, por lo tanto decidimos investigar el efecto de la deficiencia de AA en cornea y en conjuntiva limbar de cobayos.

Metodologia. Se utilizaron 8 cobayos pigmentados machos y hembras jóvenes de 250-350 gr de peso. La dieta consistió en alimento balanceado carente de AA para el grupo Deficiente (D) y al grupo Control (C) se les suministro además AA vía oral (2mg/100gr de peso).

Los animales fueron sacrificados cuando se evidencio el deterioro físico. Se realizó la anatomía patológica macroscópica de múltiples órganos y se enuclearon ambos ojos. Los mismos fueron fijados, incluidos en parafina y cortados (5 um) para colorear con Hematoxilina –Eosina.

El estudio histológico se realizó utilizando un Microscopio Nikon ACT-2U y la toma de imágenes con una Camera Nikon Digital

El análisis de datos se hizo mediante ANOVA y test de student (p significativa < 0,05)

Resultados. El deterioro físico en los animales D se evidencio por una disminución del 30-50% de su peso.

En el examen anatomo patológico se observaron, varios órganos congestivos y hemorrágicos en cobayos del grupo D, en contraposición a los animales C.

En la histología ocular de los animales C se observó el endotelio normal, mientras que en animales D las células endoteliales se observaron tumefactas y con pérdida de adherencia a la membrana subyacente.

En limbo esclero-corneal y conjuntiva limbar, se observo congestión de vasos sanguíneos e infiltrado leucocitario en los animales D a diferencia de lo observado en el grupo C ($p<0,0001$, $p=0,0059$); el infiltrado celular en limbo esclero-corneal fue significativamente mayor tanto a nivel peri vascular ($p= 0.0004$) como estromal ($p= 0.0007$).

Resultados similares en ambas estructuras se observaron en cobayos albinos

Discusión. De acuerdo a lo observado podemos concluir que la deficiencia de AA produce alteraciones en el endotelio corneal y también en vasos limbares y conjuntivales que llevarían a un aumento en la extravasación leucocitaria con predominio de células polimorfonucleares.

SURAMAB, INHIBE EL DESARROLLO DE NEOVASOS EN UN MODELO ANIMAL DE NEOVASCULARIZACIÓN CORNEAL.

1Lopez E. S.,2 Croxatto O., 3Kvanta A, 4Gallo J. E.
1 Àrea de investigación, Universidad Austral, Pilar- Buenos Aires, Argentina; 2 Servicio de Patologìa Ocular, Fundación Oftalmológica Argentina "Jorge Malbran", Buenos Aires, Argentina; 3 St Erik Eye Hospital, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden; 4 Servicio de Oftalmologìa, Hospital Universitario Austral, Pilar-Buenos Aires, Argentina.

Objetivo: Previamente hemos observado que el tratamiento endovenoso con Suramina (20 mg/kg) y bevacizumab (5 mg/kg) por separado, inhibe la neovascularización corneal. El propósito de este trabajo es evaluar el posible efecto sinérgico de ambas drogas.

Métodos: 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 blancos de raza Nueva Zelanda. Se formaron dos grupos compuestos por nueve conejos cada uno. El grupo uno fue tratado después de la lesión con Suramab EV (Bevacizumab 3mg./kg.+ Suramina 20mg./kg.) y el grupo dos no recibió tratamiento. Se tomaron fotos digitales a los 9, 15, 21 y 35 días postlesión.. Se calculó el índice de neovascularización (INV) utilizando el programa jimage.

Resultados: El INV en el grupo tratado fue notoriamente menor a lo largo de todo el experimento. A los 9 días postlesión, el INV fue mayor en el grupo control (INV Promedio: 4,77) comparado con el grupo tratado con Suramab (INV promedio: 1,55). Suramab redujo significativamente el desarrollo de neovasos (INV:6,11) comparado con el grupo control (INV:13,11) a los 35 días postlesión.

Conclusiones: La aplicación endovenosa de Suramab redujo la neovascularización corneal. La duración del efecto fue superior al obtenido previamente con concentraciones mayores de Bevacizumab y Suramina por separado. Estos resultados sugieren la presencia de sinergia entre ambas drogas.

EFECTO DE NEUROESTEROIDES SOBRE LA ACTIVIDAD GABAERGICA RETINIANA.

Salido E, Jaliffa C, Keller Sarmiento MI, Rosenstein R.
Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, U.B.A.
ezequielsalido@yahoo.com

Los neuroesteroides (NEs) facilitan o inhiben la respuesta GABAérgica asociada al receptor de tipo $GABA_A$. Dado que el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio retiniano, el objetivo de este trabajo fue examinar el efecto neuroquímico y electrofisiológico de dos NEs en retinas de hámster: pregnenolona sulfato (PS) y alotetrahidrodesoxicorticosterona (THDOC), moduladores GABAérgicos negativo y positivo, respectivamente. A nivel post-sináptico, la PS disminuyó y la THDOC aumentó el influjo de $^{36}Cl^-$ inducido por GABA en sinaptosomas retinianos. A nivel pre-sináptico, la PS estimuló la liberación fraccional de ^{3}H-GABA inducida por K^+ mientras que la THDOC disminuyó este parámetro, Este efecto fue dependiente de Ca^{++}, ya que no se evidenció en ausencia de este catión. La actividad eléctrica global de la retina se evaluó a través del electrorretinograma (ERG). Tanto la PS como la vigabatrina, un inhibidor irreversible de la degradación de GABA, disminuyeron significativamente la amplitud de la onda b. Por el contrario, tanto la THDOC como la bicuculina, un antagonista del receptor $GABA_A$, aumentaron la amplitud de la onda b. Asimismo, demostramos la presencia de la enzima citocromo P450 scc, que cataliza la ruptura de la cadena lateral del colesterol, paso limitante en la formación de NEs, tanto en la capa nuclear interna como en la células ganglionares de retina. Estos resultados indican que los NEs pueden modular en forma significativa tanto la pre- como la postsinapsis GABAérgica retiniana, así como la actividad electrorretinográfica. Dado que el GABA desempeña un rol trascendente en el procesado de la información fótica, la existencia de un sistema de señales de origen probablemente local como los NEs que afecten la actividad del sistema GABAérgico, podría tener una relevancia funcional significativa.

EL ESTRÉS OXIDATIVO PROMUEVE LA PROLIFERACIÓN Y DEDIFERENCIACIÓN GLIAL IN VITRO.

Abrahan C, Rotstein, N.
Instituto de Investigaciones Bioquímicas, UNS-CONICET, Bahía Blanca.

Introducción y objetivos: las células de Müller tienen una importante capacidad protectora durante condiciones patológicas, y se ha propuesto que serían células madre en la retina, que podrían reemplazar a las neuronas perdidas. Previamente establecimos que los oxidantes paraquat (PQ) y H_2O_2 inducen la apoptosis de neuronas de retina en cultivos puros. Investigamos ahora la respuesta de las células de Müller frente al daño oxidativo, su capacidad de proteger a las neuronas y para adquirir características necesarias para la regeneración retinal.

Metodología: cultivos gliales y cocultivos neurogliales de retina de rata se trataron con PQ o H_2O_2. La apoptosis se evaluó estudiando integridad nuclear y mitocondrial, TUNEL y exposición de fosfatidilserina. Marcadores de dediferenciación se analizaron por Western Blot.

Resultados y Discusión: El PQ no provocó apoptosis, y sí estimuló la proliferación y dediferenciación glial, disminuyendo la expresión de marcadores de diferenciación y aumentando la expresión de actina de músculo liso, marcador de dediferenciación y proliferación glial. Las células gliales en cocultivo protegieron a las neuronas del daño oxidativo inducido con PQ o H_2O_2. Estos resultados demuestran que el estrés oxidativo activa diferentes respuestas en las células gliales de Müller, que podrían no solo preservar la supervivencia neuronal sino también activar su proliferación y dediferenciación para proveer nuevas células progenitoras que podrían eventualmente ser inducidas a diferenciarse en neuronas, para así preservar la función visual.

FACTORES TROFICOS ESTIMULAN LA SINTESIS DE ESFINGOSINA-1-FOSFATO COMO SEÑAL PARA PROMOVER LA PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE LOS FOTORRECEPTORES.

Miranda G. y Rotstein N.
INIBIBB-CONICET, UNS, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.
gmiranda@criba.edu.ar

Introducción: El ácido docosahexaenoico (DHA), y el Factor Neurotrófico derivado de la Glia (GDNF) son factores tróficos de las neuronas fotorreceptoras, que promueven su supervivencia y diferenciación, y regulan su proliferación. Nuestro hallazgo que el DHA disminuye los niveles del esfingolípido ceramida para prevenir la apoptosis de los fotorreceptores (FR), sugiere que los esfingolípidos podrían mediar otros efectos de los factores tróficos sobre estas neuronas.

Objetivos: Evaluar si el DHA y GDNF aumentan los niveles de esfingosina-1-fosfato (S1P) para promover la diferenciación y proliferación de FR.

Metodología: Cultivos de neuronas de retina de rata fueron suplementados a día 0 o 1 con DHA, GDNF, y/o S1P. Para inhibir la síntesis de S1P los cultivos fueron tratados con dihidroesfingosina (DHS), inhibidor de la esfingosina quinasa (SK). Diferenciación de FR: se evaluó la formación de procesos apicales (PA) y la expresión de opsina y periferina (marcador de segmentos externos). Proliferación: se determinó el número de figuras mitóticas y la incorporación de BrdU. La expresión de SK, opsina y periferina se evaluó por inmunocitoquímica y western blot.

Resultados: La S1P estimula la expresión de opsina y periferina y el desarrollo de PA, y promueve la localización de dichas proteínas en los PA. La S1P también aumenta el número de figuras mitóticas y la incorporación de BrdU en progenitores de FR. La inhibición de la síntesis de S1P en cultivos con DHA o GDNF bloquea el estímulo de éstos sobre la diferenciación y proliferación, respectivamente. El agregado de DHA o GDNF aumenta los niveles de SK en los FR.

Discusión: La S1P sería un mediador clave en la proliferación, en estadíos tempranos del desarrollo, y en la posterior diferenciación de los FR. DHA y GDNF aumentarían la expresión de SK para promover la síntesis de S1P, que luego actuaría como señal intracelular, regulando la proliferación y la supervivencia de los FR.

MENADIONA DESENCADENA MUERTE CELULAR VÍA ESTRÉS OXIDATIVO EN CÉLULAS GANGLIONARES DE RETINA

Díaz de Barboza GE[1], Carpentieri AR[1,2], Peralta López ME[1] y Tolosa de Talamoni NG[1].

[1]Laboratorio "Dr. F. Cañas". Cát. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Ciencias Médicas, [2]Cát. de Química y Física Biológicas "A", Fac. de Odontología, UNC. E-mail: gdíaz@biomed.uncor.edu

Introducción: el estrés oxidativo contribuye a la patogénesis de numerosas enfermedades oculares incluyendo retinopatía diabética y glaucoma. Menadiona (MEN) es una quinona empleada con diferentes fines farmacológicos que genera estrés oxidativo a nivel celular. El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de MEN sobre células ganglionares de retina (CGR) y el posible rol neuroprotector de diferentes drogas antioxidantes. **Métodos:** se emplearon cultivos primarios de CGR obtenidas de embriones de pollos de 8 días de desarrollo usando el anticuerpo anti-Thy1 para su aislamiento. A las 24 h de cultivo se realizaron los tratamientos con diferente dosis de MEN y se estudió la sobrevida de las células a diversos tiempos post-tratamiento mediante la técnica de violeta de cristal. Se evaluó el efecto neuroprotector de los antioxidantes quercetina (QC), melatonina (MEL) y del metabolito activo de la vitamina D ($1,25(OH)_2D_3$). Se determinó el contenido de glutatión total (GSH) por método enzimático. La muerte por apoptosis se evaluó empleando la técnica de TUNEL. **Resultados:** se encontró muerte de CGR a partir de las 15 h de tratamiento con MEN en una manera dependiente de la dosis, siendo 12,5µM la DL50. El contenido de GSH total disminuyó a la hora de tratamiento retornando a los valores controles a las 2h. El agregado de monoéster de GSH al cultivo previno la muerte celular desencadenada por MEN. El número de células TUNEL positivas incrementó en los cultivos tratados con MEN con respecto al del cultivo control. Los tratamientos con QC, MEL o $1,25(OH)_2D_3$ no previnieron la muerte de CGR desencadenada por MEN. **Conclusiones:** la disminución en el contenido de GSH sugiere que el tratamiento con MEN genera estrés oxidativo en las CGR, lo cual puede desencadenar la muerte celular por un mecanismo apoptótico. Este efecto no es prevenido por QC, MEL o $1,25(OH)_2D_3$, por lo menos a los tiempos y dosis estudiados.

Las fuentes de financiación de este trabajo fueron CONICET (N.T.deT.), ISN-CAEN (A.C.) y SECyT-UNC (G.D.deB. y A.C.)

MELATONINA PREVIENE LA MUERTE CELULAR DESENCADENADA POR GLUTAMATO Y BSO EN CÉLULAS GANGLIONARES DE RETINA.

Carpentieri AR[1,2], Díaz de Barboza GE[1], Peralta López ME[1] y Tolosa de Talamoni NG[1].

[1]Laboratorio "Dr. F. Cañas". Cát. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Ciencias Médicas, [2]Cát. de Química y Física Biológicas "A", Fac. de Odontología, UNC. E-mail: acarpentieri@biomed.uncor.edu

Introducción: el glaucoma está asociado con la apoptosis de células ganglionares de retina (CGR). La elevada presión intraocular y las especies oxígeno reactivas (ROS) desempeñan un importante rol en la patogénesis de glaucoma. Sin embargo, se desconocen los mecanismos celulares que llevan a la apoptosis de CGR. Melatonina (MEL), una indolamina conocida por sus propiedades circadianas y antioxidantes, es sintetizada por las células fotorreceptoras y CGR, pero su rol en la retina, es poco claro.

Objetivo: estudiar y caracterizar los mecanismos apoptóticos provocados por el incremento de ROS en las CGR *in vitro* y dilucidar el papel de la melatonina en estos procesos.

Metodología: se utilizó cultivo primario de CGR de embriones de pollos, las cuales se purificaron por el método de inmunopaning. Se provocó citotoxicidad por administración de glutamato (GLUT, 20mM) y estrés oxidativo mediante la administración de L-butionina-S,R-sulfoximina (BSO, 0,5mM). Se emplearon los siguientes grupos experimentales: 1) células controles 2) tratadas con BSO+GLUT y 3) tratadas con BSO+GLUT+MEL con sus respectivos controles durante 24, 48 o 72 horas. Se estudió la sobrevida de las células mediante la técnica de violeta de cristal y se evaluó la muerte por apoptosis empleando la técnica de TUNEL. El contenido de glutatión total (GSH) se determinó por método enzimático.

Resultados: se encontró que las células tratadas con BSO+GLUT presentaban una significativa disminución de su sobrevida con respecto a los grupos controles tanto a las 48 como a las 72 hs postratamiento. Este efecto fue prevenido con la administración de MEL (0,5mM). El número de células TUNEL positivas incrementó en los cultivos tratados con BSO+GLUT con respecto al del cultivo control y a las tratadas con MEL. Sin embargo, cuando se midió el contenido de glutatión, MEL no previno la disminución provocada por BSO o BSO+GLUT 24 hs postratamientos.

Conclusión: estos resultados nos indican que MEL utilizaría un mecanismo antiapoptótico diferente al restablecimiento de los niveles de GSH. Es posible que MEL desempeñe un importante rol protector disminuyendo los procesos apoptóticos, y de esta forma constituya un potencial agente farmacológico en la prevención del daño celular retinal.

Subsidiado por CONICET (N.T.deT.), ISN-CAEN (A.C.) y SeCyT-UNC (G.D.deB. y A.C.).

EFECTO TERAPÉUTICO DE LA MELATONINA EN LA UVEÍTIS FELINA

Del Sole M.J.[1], Sande P.H.[2], Fernández D.[2], Aba M.A.[1], Rosenstein R.E.[2]
[1] Laboratorio de Fisiología del Sistema Nervioso y Endocrinología, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina. mdelsole@vet.unicen.edu.ar
[2] Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, CEFyBO, CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Introducción. La uveítis es un desorden oftálmico frecuente en los gatos domésticos. A pesar de sus reconocidos efectos adversos, los corticoides son los fármacos más utilizados para su tratamiento. Diversos antecedentes avalan que la melatonina podría revertir algunos de los mecanismos etipatogénicos involucrados en la uveítis.
Objetivo. Evaluar el efecto terapéutico de la melatonina en un modelo de uveítis felina inducida por endotoxina.
Metodología. Se inyectaron 20 µg de lipopolisacárido bacteriano (LPS) en el vítreo de uno de los ojos de 20 gatos y vehículo en el ojo contralateral. Se suministraron 3 mg de melatonina oral cada 24 h desde el día previo hasta el día 45 post inyección, a un grupo de 10 gatos. Los animales fueron sometidos a un examen oftalmológico periódico (*score* clínico) durante 45 días. Los días 2, 7, 14, 21 y 28 post-inyección se extrajeron muestras de humor acuoso (HA) de ambos ojos, en las que se determinó la concentración de proteínas, el número de células infiltradas y la peroxidación lipídica (a través de la determinación espectrofotométrica de los niveles de TBARS). El día 30 y 45 post inyección se realizaron electrorretinogramas escotópicos (ERGs) y estudios histopatológicos, respectivamente.
Resultados. En los ojos inyectados con LPS y tratados con melatonina el *score* clínico, la concentración de proteínas y los niveles de TBARS fueron significativamente menores que en los animales no tratados, aunque no se observaron diferencias significativas en el número de células infiltradas. La melatonina redujo la caída en las amplitudes de las ondas a- y b- del ERG inducida por LPS. A diferencia de lo observado en ojos inyectados con LPS en ausencia de melatonina, los animales tratados con el metoxiindol no presentaron alteraciones histológicas a nivel retiniano.
Discusión. La administración preventiva diaria de melatonina redujo las consecuencias clínicas, bioquímicas, funcionales e histológicas de la uveítis felina experimental.

ESTUDIO DEL POSTCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO RETINIANO

Fernandez DC[1-2], Bordone M[1], Aldana HJ[2], Rosenstein R[1]
[1]Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA, CEFyBO-CONICET.
[2]Laboratorio de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Morón.
diegofil@yahoo.com.ar

El postcondicionamiento isquémico (PostC) es un mecanismo de protección frente a la injuria isquémica, que consiste en la aplicación de episodios breves de isquemia/reperfusión (Isq/Rep) luego de un insulto isquémico prolongado. La efectividad del PostC se ha demostrado previamente en diversos tejidos como el corazón y el hipocampo, pero no en la retina. La isquemia es un componente central de diversas enfermedades retinianas que pueden causar ceguera irreversible. En este contexto, se evaluó el efecto protector del PostC en un modelo de isquemia retiniana.

Una isquemia prolongada (40 min) provocó daños funcionales (electrorretinografía escotópica) e histológicos (espesor total de la retina y número de células ganglionares), que fueron significativamente ($P < 0.01$) revertidos por la aplicación de siete pulsos de Isq/Rep (1min/1min) luego de 5 min de reperfusión. En retinas isquémicas se observó una marcada alteración en las capas plexiformes (inmunomarcación para sinaptofisina) así como un aumento en el número de células de Müller positivas para GFAP. El PostC revirtió estas alteraciones estructurales. El efecto protector del PostC resultó de larga duración y dependiente del número de pulsos y del tiempo de isquemia. Además, se observó una protección funcional significativa ($P < 0.01$) aún cuando el PostC se aplicó a los 60 min del episodio isquémico. La administración de cicloheximida (0.4mg/kg, i.p.) 1 min antes a la aplicación de los pulsos, pero no luego de 6 h de reperfusión, bloqueó el efecto del PostC. La administración de un inhibidor de la iNOS (aminoguanidina, 100 mg/kg i.p.) bloqueó el efecto protector del PostC.

En suma, estos resultados sugieren que el PostC provee una protección significativa funcional e histológica frente al daño isquémico retiniano, a través de un mecanismo dependiente de la síntesis proteica, particularmente de iNOS.

PARTICIPACION DE LA DOPAMINA EN LA REGULACION DE LA ACTIVIDAD AA-NAT DE LA RETINA DE POLLO.

Valdez D J[1], Rosenstein R.[2], Guido M E.[1]
1CIQUIBIC-Facultad de Ciencias Químicas, UNC. 2 Facultad de Medicina, UBA.
diego@mail.fcq.unc.edu.ar

Introducción: En la retina de vertebrados existe una relación antagónica entre el ritmo de Dopamina (DA) y Melatonina (Mel). La DA es sintetizada de día por las células amacrinas y actúa parácrinamente a nivel de fotorreceptores (CFs) regulando la síntesis de Mel a través de receptores D4. Nuestro laboratorio demostró que las células ganglionares (CGs) de la retina de pollo sintetizan Mel de manera rítmica (Garbarino-Pico et al 2004a) con niveles máximos durante el día, de manera opuesta a la observada en fotorreceptores.

Objetivos: Estudiar el efecto de la DA sobre la actividad de la enzima clave en la síntesis de Mel (AA-NAT) en la retina de pollos normales en preparados enriquecidos de CFs y CGs y analizar la capacidad de la DA de reproducir el efecto de la luz sobre este parámetro.

Métodos: Los animales fueron criados en un ciclo de luz oscuridad (LO) 12: 12 h por 7 días, luego en oscuridad constante (OO) y en el tercer día subjetivo se realizaron pulsos de luz de distintas duraciones, se inyectó DA (50 nmol) en un ojo y vehículo en ojo contralateral. Se determino la actividad AA-NAT en homogenatos enriquecidos en cada tipo celular.

Resultados: Un pulso de luz de 30 ó 60 min administrado en la 3 ^{er} h del día subjetivo (CT) ó a las 17.5 h en la noche, produce una disminución de la actividad AA-NAT en las CFs, mientras que en las CGs al CT3 durante los 1^{ros} min la luz aumenta la actividad y casi no tiene efecto al CT 17,5. Así mismo la DA disminuyo la actividad AA-NAT en las CFs pero no en las CGs.

Conclusión: Estos resultados indican que en la retina de pollo existe una interrelación entre el metabolismo de DA-Mel que regularía la fisiología retiniana, y que la DA podría estar mimetizando el efecto de la luz sobre la actividad AA-NAT.

MECANISMOS DE LOS EFECTOS DE LA NICOTINA EN CÉLULAS VASCULARES Y RETINALES EN CULTIVO.

Gramajo AL[1], Patil AJ[2], Sharma A[2], Neekhra A[3], Ayassa AA[1], Kuppermann BD[2], Kenney MC[2]
[1]Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina;
[2] Department of Ophthalmology, University of California, Irvine, CA;
[3] Department of Ophthalmology, University of Wisconsin, Madison, WI
Email: laura_gramajo@yahoo.com

Introducción: La degeneración macular relacionada con la edad (AMD) es la causa más frecuente de ceguera en personas mayores de 65 años en el mundo occidental. El rol del cigarrillo es bien reconocido en su patogénesis siendo la nicotina uno de sus componentes principales.
Propósito: Evaluar la seguridad a corto plazo de Nicotina en las células de epitelio pigmentario retinal (ARPE-19), células neurosensoriales (R28) y células del endotelio microvascular (HMVEC) y los caminos potenciales de toxicidad celular.
Métodos: Las células ARPE-19, R28 y HMVEC fueron tratadas con 10^{-2} y 10^{-4} M de nicotina por 24 horas. Además, las células R28 fueron pre-tratadas por 1 hora con 25µM de ALLN, 5µM de ALLM (inhibidores de calpaina); o 5 o 10µM de epicatequina, un antioxidante, antes de la exposición a nicotina. La viabilidad celular fue medida usando el test de exclusión con azul de tripano. La apoptosis fue evaluada midiendo la actividad de caspasa-3/7 y por medio de la DNA ladder.
Resultados: Los cultivos de R28 y HMVEC mostraron disminución en la viabilidad celular al ser tratadas con 10^{-2} M nicotina. En los cultivos de R28 tratados con nicotina, la disminución en la viabilidad celular fue parcialmente revertida con 5µM y 10µM de epicatequina. No se advirtió reversión en los efectos de nicotina con los inhibidores de calpaina. Caspasa-3/7 no fue activada por el tratamiento con nicotina en ninguna línea celular. En las células R28, la DNA ladder mostró un patrón de bandas de 200bp consistente con apoptosis. Las células HMVEC no evidenciaron dicho patrón. Las células ARPE-19 no fueron afectadas por ninguna de las concentraciones de nicotina empleadas en este estudio.
Conclusión: Nicotina, a una concentración de 10^{-2} M, es tóxica *in vitro* a células HMVEC y R28 pero no para las células ARPE-19. En las células R28, los efectos de la nicotina fueron a través de una vía oxidativa no dependiente de caspasas o calpainas. En las células HMVEC, la disminución en la viabilidad celular estaría mediada por necrosis. Entender los mecanismos de muerte celular involucrados podría tener implicaciones terapéuticas en los tratamientos potenciales de la AMD.

MODELO DE LASIK EN GALLINAS

Torres RM[1,2], Merayo-Lloves J[1], Blanco-Mezquita T[1], Günther CP[1], Martínez-García C[1]

1-Universidad de Valladolid. Valladolid, España. 2-Centro de Ojos Dr. Lódolo. Paraná-Entre Ríos, Argentina.

Introducción. La queratomileusis intraestromal con excimer láser (LASIK) es la técnica de cirugía refractiva más utilizada pero no está exenta de complicaciones y aún existen problemas sin resolver. Un modelo animal puede ser útil para estudiar estos problemas y dado que el modelo existente en conejos, tiene diferencias en cuanto a la estructura de la córnea, se decidió desarrollar un modelo en gallinas, ya que las córneas presenta una estructura más similar a la humana, en ciertos aspectos.

Objetivo. Desarrollo y caracterización de un modelo de LASIK en gallinas.

Método. Se utilizaron 100 gallinas para *desarrollar un modelo* de LASIK (seguimiento clínico e histología a 4 meses) y 32 gallinas para *caracterizar el modelo*, donde se evaluó cicatrización y transparencia corneal (transmitancia) tras LASIK en grupos A: sin tratamiento; B: quitosano 0,5%; C: carmelosa sódica 0,5%; D: fluorometolona 0,10%; E: sin cirugía).

Resultado. En el desarrollo del modelo se obtuvieron 60% de flaps adheridos y un 40% de complicaciones (7% intraoperatorias y 33% postoperatorias). Durante la caracterización del modelo, las transmitancias fueron similares entre los grupos A, B, C y D, siendo mayor en el E y menor en el B, sin diferencias significativas entre los grupos con tratamiento.

Discusión. Se ha desarrollado un modelo de LASIK en gallinas y fue caracterizado de forma clínica, óptica e histológica. No se encontraron diferencias en las medidas de transmitancias entre los grupos tratados.

Uso de la melatonina como tratamiento antiinflamatorio en un modelo de uveítis experimental en el hámster

Sande P, Fernandez D, Chianelli M, Rosenstein R, y Sáenz DA.
Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Universidad de Buenos Aires, CEFyBO/CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Introducción: En trabajos previos hemos desarrollado un modelo de uveítis experimental (UIE) en el hámster dorado a través de la administración intravítrea de lipopolisacárido (LPS), que reproduce características centrales de la uveítis humana. Asimismo, hemos demostrado que la melatonina previene las alteraciones bioquímicas, funcionales e histológicas asociadas a la UIE.

Objetivo: Evaluar el efecto de la melatonina (Mel) aplicada posteriormente al LPS, sobre las alteraciones bioquímicas y funcionales inducidas por la endotoxina.

Metodología: Se inyectó 1 μg de LPS en un ojo de hámsteres dorados macho y vehículo en el ojo contralateral. Dos grupos de hámsteres recibieron inyecciones intraperitoneales de melatonina cada 24 h durante 4 días, uno comenzando a las 12 h y el otro a las 24 h de la inyección de LPS, en tanto que el grupo control se inyectó con vehículo. Se evaluó el *score* clínico a las 24, 48 y 72 h post-inyección de LPS. Se determinó la concentración de proteínas (método de Lowry) y el número de células en el humor acuoso a las 36 h. A los 8 días se evaluó la función retiniana mediante electrorretinografía (ERG).

Resultados: A las 36 h de la inyección, el LPS provocó un aumento significativo en la extravasación de células y proteínas en el humor acuoso. La Mel redujo significativamente estos parámetros en ambos grupos con respecto al grupo control. El *score* clínico de los ojos tratados con melatonina (en ambos grupos) fue significativamente menor en los intervalos evaluados. El LPS disminuyó la amplitud de las ondas a- y b- del ERG, en tanto que la administración más temprana de melatonina (a las 12 h post-LPS) revirtió parcialmente la caída en ambos parámetros.

Discusión: Estos resultados indican que el tratamiento con Mel, aún aplicada luego del inicio del proceso inflamatorio, redujo significativamente las alteraciones provocadas por LPS. Por lo tanto, la Mel podría ser considerada una nueva estrategia terapéutica en el tratamiento de la uveítis.

TOXICIDAD OCULAR DE OMALIZUMAB (XOLAIR) INTRAVÍTREO EN CONEJOS.

Pusterla JP[1], Colombres GA[1], García LG[1], Muiño JC[1,2], Diaz H[3], Luna JD[1]; Juarez CP[1].
[1]Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina;
[2]Departamento de Medicina Interna UAHMI N ° 4 Fac Cs Med UNC –
[3]Instituto Privado de Neurociencias, Cordoba, Argentina
Email: juampipusterla@hotmail.com; cpj@fibertel.com.ar

Introducción: Omalizumab (Xolair) es un anticuerpo monoclonal usado principalmente en el tratamiento de las alergias que se une selectivamente a la IgE humana en la superficie de los mastocitos.
Propósito: Evaluar la toxicidad ocular de dosis escalonadas de Omalizumab (Xolair) intravítreo en ojos de conejo.
Métodos: Doce conejos albinos New Zealand recibieron inyecciones intravítreas unilaterales. Se inyectaron 0.1ml de Omalizumab 250 mcg (3 ojos), 500mcg (3 ojos), 1000mcg (3 ojos) y 0.1ml de solución salina balanceada (BSS, 3 ojos). Luego de las inyecciones intravítreas se realizó biomicroscopía con lámpara de hendidura y fundoscopía inmediatamente después del procedimiento, al día 1, 7 y 14. En este último control se efectuó electroretinografía (ERG) a los animales y se procedió a la eutanasia de los mismos para examen histopatológico de sus ojos.
Resultados: La biomicroscopía con lámpara de hendidura y fundoscopía fueron normales en los ojos que recibieron BSS, 250 o 500mcg de Omalizumab, sin embargo, se evidenció inflamación en 2 de 3 de los ojos que recibieron 1000mcg Omalizumab. Del mismo modo, la comparación del ERG escotópico y fotópico de base con los del día 14 no demostraron cambios en los ojos que recibieron BSS, 250 o 500mcg Omalizumab pero 2 de los 3 ojos que recibieron 1000mcg Omalizumab demostraron una reducción mayor del 30% en las ondas a y b del ERG. Finalmente, la histopatología no demostró diferencias entre los ojos que recibieron BSS, 250 o 500mcg Omalizumab, pero 2 de los 3 ojos inyectados con 1000mcg demostraron infiltración, por células inflamatorias, de vítreo y cámara anterior, presentando uno de estos ojos necrosis retinal.
Conclusiones: Las dosis escalonadas de Omalizumab intravítreo no presentan toxicidad ocular asociada con dosis de hasta 500mcg. Por el contrario, la administración de 1000mcg en 0.1ml se asoció con reacción inflamatoria y necrosis retinal en ojos de conejos.

ESTUDIOS DE PERMEACION INTRAOCULAR *IN VITRO* DE UN COMPLEJO MULTICOMPONETE DE ACETAZOLAMIDA CON HP-ß-CD Y TEA

Palma SD, Tartara LI, Quinteros D, Allemandi DA, Longhi MR, Granero GE*
Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria,5000-Córdoba, Argentina. *E-mail: glagra@fcq.unc.edu.ar

Introducción: La acetazolamida (ACZ) es un inhibidor de la anhidrasa carbónica utilizado para reducir la presión intraocular (PIO) en pacientes con glaucoma. La administración tópica de ACZ permitiría evitar las desventajas de su administración oral, sin embargo, su poca solubilidad en agua y baja permeabilidad limitan su biodisponibilidad intraocular.

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto sobre la permeabilidad corneal de un complejo multicomponente de ACZ con hidroxipropil-ß-ciclodextrina (HP-ß-CD) y trietanolamina (TEA).

Metodología: Los experimentos de permeación *in vitro* se realizaron con cámaras de difusión modificadas y córneas de conejos.

Resultados y discusión: Comparando el porcentaje de ACZ permeada luego de 150 min., entre el sistema ternario ACZ-HP-ß-CD-TEA con los sistemas binarios ACZ-HP-ß-CD y ACZ-TEA y el producto comercial AZOPT® (1% p/v brinzolamida), la cantidad de fármaco permeada al final de cada experimento siguió el siguiente orden: ACZ-HP-ß-CD-TEA > AZOPT® > ACZ-HP-ß-CD > ACZ-TEA. Todas las formulaciones tuvieron un tiempo lag de 60 min. El mayor coeficiente de permeabilidad (P_{app}) y flujo se obtuvo con el sistema ternario de ACZ. El aumento en la permeación de ACZ obtenido con el sistema ternario, ACZ-HP-ß-CD-TEA, se debe posiblemente al equilibrio rápido de las moléculas de ACZ entre el complejo y el estado de droga libre en solución, lo cual resulta en una liberación rápida del fármaco en la superficie del ojo, y en consecuencia, de un aumento en la biodisponibilidad ocular de ACZ.

Expresión y localización del low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) y alfa-2 Macroglobulina (α_2-M) en retinas humanas de pacientes diabéticos y con anemia falciforme.

Barcelona PF; Luna JD; Juarez CP; Chiabrando GA; Lutty G; Sánchez MC.
CIBICI (CONICET)- Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC. pbarcelona@mail.fcq.unc.edu.ar

Objetivos: Nuestro laboratorio ha demostrado un incremento en la expresión de α_2-M y de su receptor LRP-1 en homogenatos de retinas de rata con neovascularizacion inducida por hipoxia. El incremento de LRP-1 fue observado en células localizadas desde la membrana limitante interna (MLI) hasta la membrana limitante externa (MLE), siendo identificadas como células gliales de Müller (Sánchez et al., 2006). El objetivo de este trabajo fue extender estos hallazgos a humanos estudiando la expresión y localización de α_2-M y LRP-1 en cortes de ojos humanos criopreservados obtenidos de pacientes diabéticos y con anemia falciforme.

Materiales y Métodos: Se utilizaron cortes de tejido criopreservado proveniente de ojos humanos de individuos normales así como de pacientes con retinopatía diabética proliferativa y retinopatía asociada a anemia falciforme. La expresión de CD34, LRP-1 y α_2-M fue evaluada por inmunohistoquímica (IHQ) empleando fosfatasa alcalina streptavidina y la localización de LRP-1 fue determinada utilizando ensayos de microscopia confocal.

Resultados: En individuos normales, por IHQ se observó una marca difusa de LRP-1 en MLI de la retina, como así también en el estroma coroideo donde α_2-M también mostró una marcada expresión. Ojos de pacientes con retinopatía diabética proliferativa presentaron un patrón diferente a los individuos control, observándose una fuerte expresión de LRP-1 en MLI, fotorreceptores y estroma coroideo mientras que la expresión de α_2-M fue más prominente en la pared vascular y coroides. En el caso de los ojos de pacientes con anemia falciforme la expresión de LRP-1 fue significativa en MLI y LNI (correspondiendo esta localización a las células de Müller) asi como en el Epitelio Pigmentario, Membrana de Bruch's, coriocapilares y estroma coroideo de áreas avasculares, mientras que en áreas con neovascularización coroidea la expresión de LRP-1 estuvo muy disminuida. Finalmente, por microscopia confocal observamos localización de LRP-1 en áreas de la LNI positivas para la Proteína Acida Fibrilar Glial (GFAP) correspondientes a células de Müller activadas.

Conclusiones: Este trabajo constituye la primera evidencia que revela la presencia de sistema α_2-M/LRP-1 en retina humana durante eventos de neovascularización. Los altos niveles de expresión de LRP-1 en ojos con anemia falciforme sugieren que el sistema α_2-M/LRP-1 podría jugar un rol importante en desordenes neovasculares asociados a isquemia.

BEVACIZUMAB VS. TRIAMCINOLONA INTRAOCULAR EN EL EDEMA MACULAR DIABÉTICO DIFUSO. ESTUDIO PROSPECTIVO RANDOMIZADO: UN AÑO DE SEGUIMIENTO.

Isequilla MA, Gramajo AL, Yadarola MB, Juarez CP, Luna JD.
Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina.
Email: maruisequilla@yahoo.com.ar; moonpintojd@hotmail.com

Introducción: Tanto el acetato de Triamcinolona como Bevacizumab son usados para el tratamiento del edema macular diabético, sin embargo hay una falta relativa de estudios que comparen la seguridad o la eficacia entre estas dos drogas.
Propósito: Evaluar y comparar de forma prospectiva, la seguridad y eficacia de Bevacizumab (Avastin; Gententech, Inc) y del Acetato de Triamcinolona (Kenacort A) en el edema macular diabético difuso.
Métodos: Reclutamos pacientes mayores de 21 años con edema macular diabético difuso bilateral, con agudeza visual de 20/40 o menos, sin tratamientos quirúrgicos o láser en los 6 meses previos al estudio. Se excluyeron los pacientes con glaucoma. El seguimiento se realizo con examen oftalmológico completo en cada consulta, retinofluoresceinografía (RFG) y tomografía de coherencia óptica (OCT) al inicio, a la 4ª y 6ª semana y a los 6 y 12 meses. Todos los pacientes fueron tratados con 2.5 mg de bevacizumab (0.1ml) en el ojo derecho y 0.4 mg de triamcinolona (0.1ml) en el ojo izquierdo.
Resultados: La inyección intravítrea de bevacizumab y triamcinolona mejoró la agudeza visual en los 12 meses de seguimiento en el edema macular diabético difuso. El efecto del Kenacort sobre la disminución del espesor retinal fue significativamente superior al Avastin, siendo este mayor en las primeras semanas del tratamiento.
Conclusión: La inyección intravítrea de bevacizumab o triamcinolona en el tratamiento del edema macular diabético es segura, mejora la agudeza visual y disminuye el espesor retinal. Este tratamiento es transitorio por lo que los re-tratamientos son necesarios.

ESTUDIO PRE-CLÍNICO: IMPLANTE DE LÁMINAS EPITELIALES CORNEALES AUTÓLOGAS CULTIVADAS SOBRE PLASMA POBRE EN PLAQUETAS EN CONEJOS CON DÉFICIT DE STEM CELLS LIMBARES.

Luengo Gimeno F, Lavigne MV, Gatto AS, Ferro J, Croxatto JO, Correa L, Gallo JE.

Introducción: El transplante autólogo de membranas con células troncales de epitelio corneal puede ser una elección terapéutica en algunas patologías de la superficie corneal. Este procedimiento aún no ha sido realizado en pacientes en Argentina. Hemos comenzado un estudio experimental en conejos y poder analizar el comienzo de un estudio clínico.

Objetivo: Evaluar la eficacia del implante de láminas epiteliales corneales autólogas cultivadas sobre Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) en el tratamiento del déficit de Stem Cells (DSCL) limbares en conejos.

Metodología: El DSCL se realizó en 24 conejos mediante lesión alcalina con NaOH 1M. Se aislaron células epiteliales a partir de una biopsia limbar autóloga y se cultivaron sobre fibroblastos adheridos a PPP coagulado para obtener una lámina estratificada. Luego de una queratectomía laminar profunda, las láminas fueron suturadas en 16 animales sobre el estroma receptor. El grupo control (n=8) recibió sólo una membrana de PPP coagulado. Colirios de ciprofloxacina y dexametasona fueron utilizados por 15 días. La evolución clínica fue documentada de acuerdo al score de DSCL de Bagley. Se procesaron las córneas a 3 y 6 meses para estudios inmunohistopatológicos (Anti K3/12 y K4).

Resultados: El grupo tratado mostró una evolución clínica notoria y en su mayoría no se presentaron signos de DSCL al momento de sacrificio. Las córneas implantadas mostraron un epitelio estratificado continuo de grosor completo con células de citoplasma claro sobre la membrana basal. No hubo signos clínicos y/o histológicos de reacción inmunológica y la expresión de queratinas 4 y 3/12 fue similar a la hallada en corneas normales. El grupo control mostró signos de DSCL, proliferación fibrovascular, un epitelio regenerativo con células mucosecretantes y una fuerte expresión de queratina 4.

Discusión: Los implantes autólogos de láminas de epitelio limbar cultivadas sobre PPP posibilitaron la reepitelización corneal y el tratamiento del DSCL durante 6 meses en conejos con lesiones cáusticas. Esta técnica podría ser utilizada en un estudio piloto en pacientes argentinos.

COMPARACIÓN DE ESCALAS DE DIFUSIÓN INTRAOCULAR

Pablo Barrionuevo (1), Harold Zuluaga (2), Luis Issolio (1), Jaume Pujol (2), Elisa Colombo (1)
(1) Departamento de Luminotecnia Luz y Visión, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.
(2) Centro de Desarrollo de Instrumentos, Sensores y Sistemas, Universidad Politécnica de Cataluña, Terrassa, España.
pbarrionuevo@herrera.unt.edu.ar

Introducción: La reducción de la visibilidad en condiciones deslumbrantes es producida por la difusión intraocular de la luz. Esta puede ser importante en casos de cataratas, donde la evaluación clínica es dependiente del criterio del oftalmólogo. En el ámbito de la investigación existen tres alternativas: C-Quant, OQAS y comparación de claridad (CC).

Objetivo: Determinar escalas de difusión intraocular en CC y OQAS comparando con los valores del C-Quant.

Metodología: CC provee una medida psicofísica a partir de un test y una referencia presentada tanto con como sin deslumbramiento, de donde se obtienen las luminancias de igualación Lm y Lr' respectivamente, determinándose el índice de deslumbramiento ID=(Lr'/Lm-1). Por su parte, el OQAS basa su medida de la calidad óptica del ojo en la técnica del doble paso, de donde se discrimina la componente de difusión a través del índice de difusión ocular OSI. Con ambos equipos se midió a 16 sujetos normales (23 a 55 años).

En otro experimento, con el C-Quant se midió a 10 personas normales (22 a 35 años) con tres niveles de difusión externa: normal (sin difusor), baja (difusor BPM1) y alta (difusor C3020). Usando estos mismos filtros difusores se midió ID a un grupo de 5 personas normales (25 a 39 años) a fin de poder trasladar la escala.

Resultados y Discusión: Los valores obtenidos con el C-Quant son 0,7 para normales, 1,3 para baja difusión y 2 para alta difusión, que se corresponden con valores ID de 0,4; 0,8 y 2, determinados con el sistema CC. De la relación obtenida entre ID y OSI en el mismo grupo se encuentra que valores menores a 0,6 y 2 respectivamente, pueden ser considerados normales en estos sistemas, mientras que valores mayores indicarían algún grado de difusión.

ESTUDIO POBLACIONAL SOBRE CAUSAS DE IMPEDIMENTO VISUAL EN LA LOCALIDAD DE TINOGASTA, CATAMARCA, ARGENTINA.

Ruartes CA, Latino SG, Gramajo AL, Yadarola MB, Juárez CP, Luna JD.
Departamento de Oftalmología, Fundación VER, Córdoba, Argentina.
Email: ruartonpiojoso@hotmail.com; moonpintojd@hotmail.com

Introducción: El impedimento visual es un problema de salud pública global. Los estudios de población son útiles en valorar las causas y frecuencia de los impedimentos visuales más importantes y sirven además para ejecutar prevención, rehabilitación y programas de tratamiento.

Propósito: Determinar la prevalencia y causas de impedimento visual en una población de bajos recursos en Tinogasta y su área de influencia en la provincia de Catamarca.

Métodos: Se realizo un estudio observacional de 564 pacientes de todas las edades (1 a 99 años). Se realizó medición de agudeza visual mejor corregida así como examen oftalmológico completo.

Resultados: La prevalencia de visión normal (20/20-20/30) con agudeza visual mejor corregida fue de 68.48%; 18.05% presentaron alteraciones visuales leves (20/40-20/70); se evidenció una disminución visual moderada (20/80 a 20/100) del 6.13% y una disminución visual severa (20/200 O PEOR) del 7.32%.El impedimento visual distribuido por franjas etarias fue como lo indica el siguiente cuadro:

EDAD años	NORMAL (20/20-20/30)	LEVE (20/40-20/70)	MODERADO (20/80-20/100)	SEVERO (20/200 o peor)
0 a 20	34.82 %	14.15 %	13.88 %	20.93 %
21 a 40	19.40 %	18.86 %	25.00 %	25.58 %
41 a 60	38.80 %	31.13 %	36.11 %	16.28 %
61 a 80	6.96 %	34.90 %	25.00 %	18.60 %
> 80	2.23 %	0.94 %	0.00 %	18.60 %

La distribución del impedimento visual de acuerdo a las patologías fue también descripta.

Conclusión: El impedimento visual severo es poco mas del 7% de la población de bajo recursos en esta población, siendo distribuido en forma uniforme en todas las categorías etarias aunque en los primeros 40 años alcanza casi el 50%. Los problemas refractivos, sin solución por condición económica, son la causa del impedimento visual más común en la gente joven y las cataratas lo son dentro de los pacientes mayores de 60 años.

INDICE DE AUTORES

Aba MA 34
Abrahan C 30
Acosta-Rodriguez VA 11
Aldana HJ 35
Allemandi DA 24,41
Ayassa AA 37
Barcelona PF 13,42
Barrionuevo P 15,45
Basabe JC 22,23
Belforte N 21
Berra A 9,25,26
Blanco-Mezquita T 38
Bordone M 35
Cafaro T A 27
Carpentieri AR 32,33
Chiabrando GA 13,42
Chianelli M 21,39
Colombo E 45
Colombres GA 40
Contín MA 9,10
Correa L 44
Croxatto O 18,22,23,28,44
Cubilla MA 25,26
de Zavalía N 20
Del Sole MJ 34
Díaz de Barboza GE 32,33
Diaz H 40
Dovasio MF 18
Fernandez DC 34,35,39
Ferro J 44
Gallo JE 22,23,28,44
Garcia LG 16,40
García MM 18
Gatto AS 44
Gentile CM 18
Giusto NM 10
Gramajo AL 37,43,46
Granero GE 41
Günther CP 38
Guido ME 9,10,11,36
Hansen L 26
Ilincheta M 10
Iribarne M 25,26
Isequilla MA 43
Issolio L 45
Jaliffa C 29
Juarez CP 16,40,42,43,46
Jure Vallejos DR 17
Keller Sarmiento MI 20,29
Kenney MC 37
Kuppermann BD 37
Kvanta A 28
Latino SG 46
Lavigne MV 44
Lombardi A 18
Longhi MR 41
Lopez E. S 28
López EM. 12
López-Costa JJ 12
Lorenc VE 13
Luengo Gimeno F 44
Luna JD 16,40,42,43,46
Lutty G 42
Maletto B 24
Manzo RH 24
Mancini JE 22,23
Martín A. 15
Martínez-García C 38
Merayo-Lloves J 38
Miranda G 31
Moreno MC 20
Muiño JC 16,40
Neekhra A 37
Nieto PS 11
Ocampos J 17
Onaivi ES 12
Ortiz S 13,27
Palma SD 24,41
Patil AJ 37
Peña FY 17
Peralta López ME 32,33
Politi LE 14
Pujol J 45
Pusterla JP 16,40
Quinteros D 24,41
Rabinovich G 16
Racca ML 19
Robles L 27
Romero M 16
Rosenstein R 20,21,29,34,35,36,39
Rotstein N 14,30,31
Ruartes CA 46
Sáenz DA 39
Salido E 29
Salvador G 10
Sampaolesi R 19

Samudio M 17
Sánchez MC 13,42
Sande PH 21,34,39
Santillán J 15
Serra H M 27
Sgroi M 26
Sharma A 37
Simón MV 14
Suburo AM 25,26
Tagliaferro AP 12
Tartara LI 24,41
Tolosa de Talamoni NG 32,33
Torbidoni AV 25
Torres RM 38
Valdez DJ 36
Verra DM 9
Urrets-Zavalía JA 27
Yadarola MB 43,46
Zárate JO 19
Zuluaga H 45