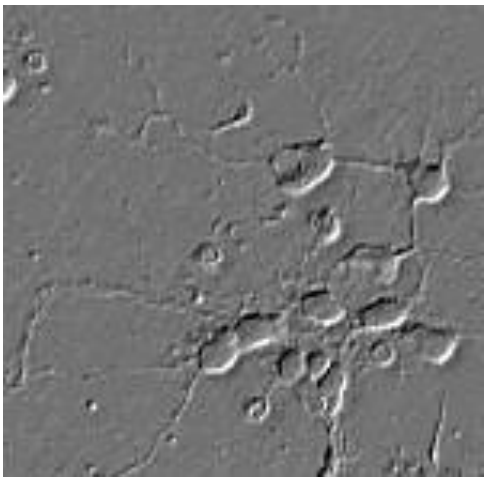
Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

ARVO International Chapter



XII CONGRESO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN VISIÓN Y OFTALMOLOGÍA

Viernes 26 y sábado 27 de octubre de 2018

- *Pabellón Argentina, Ciudad Universitaria y*
- *Sala de Conferencias II. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba*

Reunión conjunta con la Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias (SAN), 24 al 26 de octubre 2018.

Portada: gentileza "Pinturas MASK", Bahía Blanca: alinakarensobieraj@hotmail.com

Comisión Directiva 2018-2020:

Luis Politi, Presidente.

Jeremías Galleti, Vice-Presidente.

María Cecilia Sánchez, Secretaria Relaciones Internacionales.

Rodrigo Torres, Secretario de Relaciones Internacionales.

María Ana Contín, Secretaria

Lorena German, Tesorera

Vocales:

Damián Dorfman

Pablo Barrionuevo

Fernanda Suárez

María Victoria Simón

Martín Fernando Arrúa Caballero

Comité Científico:

María Ana Contín

Lorena German

Ruth Rosenstein

Nora Rotstein

Cecilia Sánchez

Rodrigo Torres

Auspicios

ARVO
The Association for Research
in Vision and Ophthalmology

NOVARTIS
PHARMACEUTICALS

IBRO
INTERNATIONAL BRAIN RESEARCH ORGANIZATION

FONCYT
FONDO PARA LA INVESTIGACION
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA
AGENCIA
NACIONAL DE PROMOCION
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA

PROGRAMA

Jueves 25 de octubre
(Pabellón Argentina, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional de Córdoba)

11:00-12:00hs Room A: Conferencia Plenaria AIVO-SAN:

"Retinal Degenerations: The Isoprenoid Connection".
Prof. Dr. Steven J. Fliesler.
Depts. of Ophthalmology and Biochemistry and Graduate Program in Neurosciences, Univ. at Buffalo - The State University of New York, and the VA Western New York Healthcare System, Buffalo VA Medical Ctr, Buffalo, NY, USA.

Coordinadora: Nora Rotstein

Viernes 26 de octubre
(Pabellón Argentina, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional de Córdoba)

9:00 – 11:00hs: ACREDITACION
10:45 h: APERTURA

11:00 - 13:00hs Room A: SIMPOSIO AIVO-ARVO

"**Cell strategies in degenerative and regenerative processes of the nervous system**".
Coordinadores: Luis E Politi y Patricia Setton.

Speakers:

11:00-11:30hs: Modeling RGC development: Insight into glaucomatous degeneration and therapeutic regeneration.
Iqbal Ahmad.
Department of Ophthalmology and Visual Sciences, College of Public Health, University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, USA.

11:30-12:00hs: Multipotent cells as mediators of peripheral nerve regeneration
Patricia Setton
IQUIFIB-CONICET-UBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

12:00-12:30hs: Functionally Re-Wiring the Retina during Retinal Regeneration in Adult Zebrafish
Deborah Stenkamp
Dept. of Biological Sciences, University of Idaho, Moscow, Idaho, USA.

12:30-13:00hs: 3D Retinal Organoids: New Frontiers for Stem Cell-based Clinical Applications
Valeria Canto Soler
3D Ret Lab, University of Colorado School of Medicine, USA.

13:00 hs: "ALMORZANDO CON EXPERTOS"

Almuerzo de becarios y jóvenes investigadores con la Dra. Valeria Canto Soler (University of Colorado School of Medicine, USA).

15:30 -17:30hs SIMPOSIO AIVO
"**Cellular and molecular mechanisms in retina degeneration**"
Coordinadoras: Nora Rotstein y Cecilia Sánchez.

Speakers:

15:30-16:00hs: Neuroprotection of photoreceptors as a therapeutic strategy in retinal degeneration.
Thomas Cotter, Ani-Ruiz-Lopez, Ashley Byrne and Sarah Roche.
School of Biochemistry and Cell Biology, University College Cork, Ireland.

16:00-16:30hs: Vascular and non-vascular alterations in retinopathies: towards a change in the therapeutic strategy
Cecilia Sánchez, Rídano M.E., Subirada P.V., Paz M.C., Lorenc V.E., Luna J.D., Barcelona P. F., Vaglienti M.V.
CIBICI-CONICET-UNC, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias

Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

16:30-17:00hs: Molecular Mechanisms of PEDF Peptides in Retinal Degenerations
Patricia Becerra
Sect. Protein Structure and Function, Lab. Retinal Cell and Molecular Biol., NEI, National Institutes of Health, Bethesda, MD, EEUU.

17:00-17:30: Analysis of Choroid/RPE cell diversity using single cell RNA sequencing. Implications for choroid homeostasis and the pathogenesis and treatment of AMD.
Enrique Rodríguez-Boulan
Weill Cornell Medicine, Dyson Vision Institute, Cornell University, New York, USA**.**

Sábado 27 de octubre de 2018
(Sala de Conferencias II. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba)

09:00- 10:40 hs **Presentaciones orales.**
Coordinadores: Galletti Jeremías y Dorfman Damián

09:00 **Acerca de susceptibilidad particular de la macula a la degeneración macular asociada a la edad no exudativa.**
Dorfman D, Dieguez HH, Romeo HH, Alaímo A, González Fleitas MF, Aranda ML, Sande PH, Rosenstein RE.

09:10 **La melatonina protege el epitelio pigmentario retiniano y la retina central en un modelo de degeneracion macular asociada a la edad no exudativa en ratón.**
Dieguez HH, Romeo EH, Alaimo A., González Fleitas MF., Aranda ML., Sande PH., Rosenstein RE., Dorfman D.

09:20 **La cianotoxina β-n-methylamino-l-alanine (BMAA) induce daños neurodegenerativos en neuronas y células gliales de retina**
Soto, Tamara; De los Santos, Beatriz; Rotstein, Nora; German, Lorena y Politi, Luis.

09:30 **Telemedicina smartphone y prevención de ceguera: retinografìas con prototipo ODI -HF (oftalmoscopia digital indirecta manos libres). Proyecto de biometria y reconstrucción de imágenes por inteligencia artificial.**

Gabriela Saidman, Guillermo Monteoliva, Julio Urrets Zavalia, Adrian Salvatelli, Tomas Ortiz Basso, Fernando Giusio y Rodrigo Torres

09:40 **Efecto de NO2-OA sobre el estrés oxidativo y la reactividad glial en células gliales de Müller**
María V. Vaglienti, Magali E. Ridano, Paula V. Subirada, Maria C. Paz, Pablo F. Barcelona, Gustavo R. Bonacci, María C. Sánchez.

09:50 **El factor de crecimiento derivado del epitelio (PEDF) y sus fragmentos neurotróficos promueven la supervivencia y diferenciación de neuronas de retina**
Germán Michelis; Lorena German; Nora P. Rotstein; Luis Politi; Patricia Becerra.

10:00 **Exposición a un ambiente enriquecido como estrategia terapeutica en un modelo de glaucoma experimental**
González Fleitas, F; Devouassoux, J; Aranda, M.; Chianelli, M; Keller Sarmiento, I; Diéguez, H; Sande, P, Dorfman, D; Rosenstein, R.

10:10 **Análisis proteómico en pterigion primario avanzado**
Suarez MF, Barros MF, Gonzalez-Castellanos A, Guantay C, Urrets-Zavalía JA, Serra HM

10:20 **Adherencia al examen anual de fondo de ojos en personas con diabetes luego de implementar un programa de salud basado en tele-diagnóstico en la Provincia de la Pampa**
Tomas Ortiz Basso

10:30 **Alfa-1-antitripsina como modulador de la expresión de IRS1 durante el tratamiento de la retinopatía diabética**
Petrigliano M; Potilinski MC; Gallo JE.

10:40-11:00hs **Coffee break**

11:00-12:40 hs **Presentaciones orales.**
Coordinadores: Rosenstein Ruth y German Lorena

11:00 **Propuesta de sistema de información basado en norma DICOM para aplicaciones oftalmológicas orientada a retinopatías del**

prematuro (ROP). Salvatelli, G. Bizai, B. Drozdowicz, A. Hadad, D. Evin, R. Torres

11:10 **Células stem/progenitoras: su potencial efecto neuroprotector en retinas fotodegeneradas de ratas**
Mariana Bareiro, Manuel Soliño, Ester M. López, Manuel Rey-Funes, Cesar F. Loidl, Juan J. López-Costa

11:20 **Modulación de la respuesta inflamatoria y antiviral en células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) a través de Receptores X Retinoideos (RXR): posible blanco terapéutico para enfermedades neurodegenerativas**
Ayala-Peña Victoria B, Armiento Nieves, Scolaro Luis A, German Olga Lorena.

11:30 **Desarrollo y desempeño de un microsensor para la evaluación de la salud ocular.**
Zalazar, Martín; Mista, Christian; Torres, Rodrigo.

11:40 **Alfa-1 antitripsina modula la expresión de proteínas inflamatorias y otras proteínas escenciales para la retina en células ARPE-19 con alta glucemia.**
Potilinski MC; Ortíz GA; Petrigliano M; Gallo JE.

11:50 **La vía fosfolipasa D modula el proceso autofágico en las células del epitelio pigmentario de la retina expuestas a estrés inflamatorio.**
Vicente Bermúdez, Paula E. Tenconi, Norma M. Giusto, Melina V. Mateos

12:00 **Esteroides y supervivencia de fotorreceptores**
Melisa D. Marquioni Ramella, Pablo Tate, Mariela Marazita, Angela Suburo

12:10 **Parthanatos, una nueva vía activada por la ceramida para inducir la muerte de las neuronas fotorreceptoras**
Prado Spalm F.H., Vera M.S., Dibo M.J., Simón M.V., Politi L.E, y Rotstein N.P.

12:20 **Rapamicina: otra potencial estrategia terapéutica para modular la neovascularización retinal pero no la neurodegeneración**
Subirada, PV; Paz, MC; Ridano, ME; Vaglienti, V; Barcelona, PF; Chiabrando, GA; Sánchez, MC.

12:30 **Efectos retinianos en el daño del nervio óptico inducido por neuritis óptica experimental**
Florencia Altschuler, María F. González Fleitas, Mónica S. Chianelli, Pablo H. Sande, Damián Dorfman, Ruth E. Rosenstein, Marcos L. Aranda**.**

14:30-14:45 hs **Charla con la CAO**

14:45-16:05 hs **Presentaciones orales.**
Coordinadores: Sanchez Cecilia y Contín María Ana

14:45 **Esfingosina-1- fosfato: un nuevo mediador en la migración de las células epiteliales de la retina en la retinopatía diabética?**
Simón MV, Vera MS, Prado Spalm FH, y Rotstein NP.

14:55 **Validation of laser-induced choroidal neovascularization (CNV) mouse model**
Barcelona, PF; Subirada, PV; Sabbi, TN; Márquez, MA; Vaglienti, MV; Ridano, ME; Márquez, GE; Paz, MP; Luna, JD; Sánchez, MC.

15:05 **Efecto protector de componentes bioactivos de la yerba mate sobre las lesiones de la retina provocadas por daño oxidativo**
Pablo S. Tate, Mariela C. Marazita, Melisa D. Marquioni Ramella, Angela M. Suburo

15:15 **Detection of alterations in the retina through the evaluation of the pupillary reflex evoked by red light in canines with cataracts**
Iaquinandi Murtagh, A.; Reyes, H.; López Martínez, Lilian; Sande Casal, P.

15:25 **Rol crítico del reclutamiento de leucocitos en el daño del nervio óptico inducido por neuritis óptica experimental**
Marcos L. Aranda, Florencia Altschuler, María F. González Fleitas, Diego Guerrieri, Hernán H. Dieguez, Damián Dorfman, Ruth E. Rosenstein.

15:35 **El sistema endocannabinode es modulado por el estímulo lumínico en el segmento externo de los bastones de retina bovina**

Estefania Chamorro Aguirre, Virginia Gaveglio, Susana Pasquaré

15:45 **Efecto neuroprotector del agonista del receptor CB1, ACEA, en la degeneración retiniana inducida por la luz.**
Soliño M, Bareiro M,Rey-Funes M, López EM, Caltana L, Brusco A, Peláez R, Larrayoz I, Martínez A, Girardi E and López-Costa JJ.
Respuesta pupilar en fumadores: un estudio preliminar

16:00 **Pupillary response in smokers: a preliminary study**
Constanza Tripolone[a], Eliza Lacerda[b], Luis Issolio[a,c], Pablo Barrionuevo[a].

16:10 **Efectos de una dieta rica en fructuosa en la integridad vascular y funcionalidad neuronal en la retina de ratones hipercolesterolemicos.**
Paz, MC[1]; Barcelona, P[1] Subirada, PV[1]; Ridano, ME[1]; Chiabrando, G[1]; Castro, C[2]; Sánchez, MC[1]

16:20 **Modelo experimental de opacificación capsular posterior en conejos**
Experimental model of posterior capsular opacification in rabbits.

Manlla, Luis; Tártara, Ignacio; Campana, Vilma; Guaycochea, Mariana; Caballero, Gabriela; Cremonezzi, David;

16:30 **INSULINA INDUCE LA EXOCITOSIS DE LRP1 HACIA LA SUPERFICIE CELULAR DE CÉLULAS GLIALES DE MÜLLER.**
Virginia Actis Dato, María Cecilia Sánchez, Gustavo Alberto Chiabrando.

16:30-17:10hs Coffee break

17:10-18:00hs: Asamblea

18:00hs: CIERRE

RESÚMENES: CONFERENCIA PLENARIA Y SIMPOSIOS

CONFERENCIA PLENARIA

Jueves 25 de octubre

(Pabellón Argentina, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional de Córdoba)

11:00-12:00hs Room A: Conferencia Plenaria AIVO-SAN:

"Retinal Degenerations: The Isoprenoid Connection".

Prof. Dr. Steven J. Fliesler.

Departments of Ophthalmology and Biochemistry and Graduate Program in Neurosciences, University at Buffalo- The State University of New York, and the VA Western New York Healthcare System, Buffalo VA Medical Center, Buffalo, NY (USA)

Abstract

The mevalonate pathway generates a number of biologically important isoprenoid products, including sterols (*e.g.*, cholesterol), steroid hormones, bile acids, dolichol and its derivatives, isoprenylpyrophosphates, and biogenically related compounds. Cholesterol— quantitatively the dominant product of the pathway— is a ubiquitous component of the membranes of almost all eukaryotic cells and tissues, as well as of blood-borne lipoproteins. However, although cholesterol is essential for the viability and normal function of higher eukaryotes, an over-abundance of cholesterol has been associated with human disease, including Alzheimer's disease and age-related macular degeneration. Similarly, a paucity of cholesterol also can be deleterious, even lethal. Hence, defective cholesterol biosynthesis can lead to disruption of cellular and systemic physiology, resulting in profound pathologies. Using a rat model that mimics one such human recessive disease (Smith-Lemli-Opitz Syndrome (SLOS)), it has been shown that blocking the last step in cholesterol synthesis causes a progressive and irreversible retinal degeneration. Studies in our lab indicate that the molecular mechanism underlying this degeneration is not simply due to cholesterol deficiency; rather, it is complex, involving marked lipidomic, proteomic, and genomic changes, including lipid and protein oxidation. Hence, providing exogenous cholesterol alone (the current standard of care for SLOS patients) is not an effective therapeutic strategy. We hypothesized that combined antioxidant-cholesterol supplementation should prevent or markedly reduce the severity of the retinal degeneration in the SLOS rat model. This prediction has been validated, providing the necessary proof-of-principle to guide an evidence-based clinical trial for developing an improved therapeutic intervention for SLOS and related diseases.

Viernes 26 de octubre

SIMPOSIOS

11:00 - 13:00hs Room A: SIMPOSIO AIVO-ARVO

"**Cell strategies in degenerative and regenerative processes of the nervous system**".
Coordinadores: Luis E Politi y Patricia Setton.

Speakers:

1) **11:00-11:30hs: Modeling RGC development: Insight into glaucomatous degeneration and therapeutic regeneration.**
Iqbal Ahmad PhD. Department of Ophthalmology and Visual Sciences, College of Public Health, University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, USA.
Abstract:
Glaucoma is a complex group of diseases with a unifying theme where retinal ganglion cells (RGCs) degenerate leading to irreversible blindness. Since RGCs are born embryonically and glaucoma is a late onset disease our knowledge about RGC susceptibility, which may facilitate early diagnosis and better management of the disease, remains rudimentary. We are testing a hypothesis that RGCs are intrinsically vulnerable to glaucomatous risk factors by modeling human RGC development, using the iPSC technology. iPSC lines were generated from the peripheral blood of age- and sex-matched healthy donors and glaucoma patients. We observed that our stage-specific chemically defined protocol directly differentiated iPSCs into RGCs by recapitulating normal developmental mechanism that included temporal and hierarchical activation of RGC-specific transcription factors. These cells displayed morphological, functional, and transcriptional profiles of native RGCs. More importantly, they expressed a battery of guidance molecules and their processes discriminated between specific (superior colliculus) and non-specific (inferior colliculus) target cells. They regenerated their axons in a micro-fluidic model of chemical axotomy, their regenerative capacity regulated by mTOR and/or IL-6 pathways. The model revealed that iPSCs derived from glaucoma patients with SIX6 risk allele (rs33912345; C>A; Asn141His) generated RGCs at lower efficiency versus controls, demonstrating developmental abnormalities at morphological (shorter and simpler neurites), functional (immature electrophysiological properties) and molecular (dysregulated transcription regulators such as Meis1 and Hmaga2 and pathways such as mTOR) levels. Together, our results suggest that the neural pathology observed in adult glaucoma may have a developmental onset and the identified dysregulated genes and pathways may be targeted for early diagnosis, approaches to prevent degeneration, and to facilitate therapeutic regeneration.

2) **11:30-12:00hs: Multipotent cells as mediators of peripheral nerve regeneration**

Patricia Setton PhD. IQUIFIB-CONICET-UBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Abstract:

Demyelination is one of the hallmarks of the Wallerian degeneration (WD) process and cell therapy is among the strategies under study to induce remyelination. Results from our group obtained in a reversible model of WD induced by the crush of the rat sciatic nerve demonstrated the spontaneous migration of endogenous or transplanted bone marrow mononuclear cells (BMMC) exclusively to the injured nerve. Once in the ipsilateral nerve, some BMMC colocalize with Schwann cell markers and nerve fiber markers. In this context, our group is currently digging into the regenerating effects of BMMC and adipose-derived mesenchymal stem cell transplant upon injury in terms of axon morphology and function, neuropathic pain amelioration and the corresponding underlying mechanisms. In addition, studies underway are seeking to optimize cell recruitment to the lesion area through pharmacological and nanotechnological resources. So far, results hint at a beneficial role for multipotent cells in nerve injury and suggest they could be useful adjuvants to anti-inflammatory/analgesic drug treatments.

3) **12:00-12:30hs: Functionally Re-Wiring the Retina during Retinal Regeneration in Adult Zebrafish**

Deborah Stenkamp PhD. Dept. of Biological Sciences, University of Idaho, Moscow, Idaho, USA.

Abstract:

we previously reported strikingly normal morphologies and functional connectivities of regenerated retinal bipolar neurons (BPs) in zebrafish retinas sampled 60 days after a ouabain-mediated lesion of inner retinal neurons (60 dpi) [McGinn et al., 2018, *J Neurosci* 38(1):120-136]. Here we report early steps in the birth of BPs and formation of their dendritic trees and axons in histologically regenerated retinas following retinal injury. Zebrafish were subjected to ouabain-mediated lesion that destroys inner retinal neurons and spares photoreceptors and Müller glia, and were sampled at 13, 17, and 21 dpi, a time frame over which plexiform layers re-emerge, and which corresponds to the initial appearance and accumulation of two populations of BPs (PKCα+ and *nyx::mYFP*+). Sequential BrdU, then EdU, incorporation reveals that similar fractions of PKCα+ BPs and Hu+ amacrine/ganglion cells are generated at the same times, suggesting that the sequence of neuronal production during retinal regeneration may not strictly match that observed during embryonic development. The sparsely distributed *nyx::mYFP*+ BPs were examined for morphological detail by confocal microscopy, tracing, morphometric analyses, identification of cone synaptic contacts, and rendering/visualization. Apically-projecting neurites (=dendrites) of regenerated BPs sampled at 13, 17, and 21 dpi are either truncated, or display smaller dendritic trees when compared to controls. In cases where BP dendrites reach the outer plexiform layer

(OPL), numbers of dendritic tips are similar to those of controls at all sampling times. Further, by 13-17 dpi, BPs show patterns of photoreceptor connections that are statistically indistinguishable from controls, while those sampled at 21 dpi slightly favor contacts with double cone synaptic terminals over those of blue-sensitive cones. These findings suggest that dendrites of regenerated BPs that reach the OPL establish normal photoreceptor connectomes, albeit with some plasticity. Through 21 dpi, basally-projecting neurites (=axons) of regenerated *nyx::mYFP*+ BPs traverse long distances, branch into inappropriate layers, or appear to abruptly terminate, making them difficult to trace. Collectively, these findings suggest that, after a lesion that destroys BPs and their postsynaptic partners, but spares their presynaptic inputs, maturation and pathfinding of regenerated BP axons is delayed compared to formation and maturation of their dendritic trees.

4) **12:30-13:00hs: 3D Retinal Organoids: New Frontiers for Stem Cell-based Clinical Applications**

Valeria Canto Soler PhD. 3D Ret Lab, University of Colorado School of Medicine, USA.

Abstract:

Human induced pluripotent stem cells (hiPSC) provide a unique tool for the development of in vitro models of retinal diseases as well as therapeutic strategies to regenerate the diseased retina. Recent progress in our ability to generate hiPSC-derived three dimensional retinal tissue that closely mimic the in vivo retinal microenvironment and tissue organization open new frontiers for their use in clinical applications. This talk will present and overview of the current-state-of-the art in retinal organoids; discuss the challenges and opportunities these systems present for clinical applications; and describe new directions being pursued in the context of potential therapeutic approaches.

Viernes 26 de octubre
15:30 -17:30hs SIMPOSIO AIVO
"**Cellular and molecular mechanisms in retina degeneration**"
Coordinadoras: Nora Rotstein y Cecilia Sánchez.

Speakers:

1) **15:30-16:00hs: Neuroprotection of photoreceptors as a therapeutic strategy in retinal degeneration.**

Thomas Cotter, Ani-Ruiz-Lopez, Ashley Byrne and Sarah Roche.
School of Biochemistry and Cell Biology, University College Cork, Ireland. email: t.cotter@ucc.ie

Abstract:

Retinitis pigmentosa (RP) is a degenerative disease leading to

photoreceptor cell loss. Mouse models of RP, such as the rd10 mouse have enhanced our understanding of the disease, allowing for development of potential therapeutics. Our group has demonstrated that the synthetic progesterone analogue 'Norgestrel' is neuroprotective in two mouse models of retinal degeneration. We have elucidated several mechanisms by which Norgestrel protects photoreceptors, such as up-regulating growth factors and damping of glia cell activity. This presentation will outline the mechanism and action of Norgestrel's neuroprotective effects. Dams of post-natal day (P) 10 rd10 pups were given a Norgestrel-supplemented diet (80mg/kg). Upon weaning, pups remained on Norgestrel. Tissue was harvested from P15-P50 rd10 mice. Norgestrel-diet administration provided significant retinal protection to P40 in mice. Alterations in microglial activity coincided with significant protection, implicating microglial changes in Norgestrel-induced neuroprotection.
Utilizing primary cultures of retinal microglia and 661W photoreceptor-like cells, we show that rd10 microglia drive neuronal cell death. We reveal a novel role of Norgestrel, acting directly on microglia to reduce pro-inflammatory activation and prevent cell death. Norgestrel effectively suppresses cytokine, chemokine and danger-associated molecular pattern molecule (DAMP) expression in the rd10 retina. Remarkably, Norgestrel up-regulates fractalkine-CX3CR1 signalling 1000-fold at the RNA level. Fractalkine-CX3CR1 signaling has been shown to protect neurons by regulating retinal microglial activation and migration. Ultimately, these results present Norgestrel as a promising treatment for RP.

2) **16:00-16:30hs: Vascular and non-vascular alterations in retinopathies: towards a change in the therapeutic strategy**

Sánchez M.C.[1], Ridano M.E.[1], Subirada P.V.[1], Paz M.C.[1], Lorenc V.E.[1,3], Luna J.D.[2], Barcelona P. F.[1], Vaglienti M.V.[1].
1 Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
2 Centro Privado de Ojos Romagosa-Fundación VER, Córdoba, Argentina.
3 Department of Ophthalmology, The Johns Hopkins School of Medicine, Baltimore, MD, United States

Abstract:
Neovascular retinopathies are leading causes of irreversible blindness.
Although vascular endothelial growth factor (VEGF) inhibitors have been established as the mainstay of current treatment, clinical management of these diseases is still limited. As retinal impairment involves abnormal neovascularization and neuronal degeneration, we evaluated here the retinal functionality and the behavior of neuro-glial injury markers using the oxygen-induced retinopathy (OIR) model in mice treated or not with anti-VEGF mAb.
Postnatal day 17 OIR mouse retinas showed the highest neovascular profile and exhibited neuro-glial alterations as well as retinal functional loss, which persisted until

P26 OIR. Remarkably, although anti-VEGF treatment in P17 OIR improved retinal vascularization, neither non-vascular nor functional alterations were attenuated. These results suggest that, in addition to neovascularization, retinal neurodegeneration should also be considered an important pathogenic component of the disease highlights the importance of non-vascular alterations in proliferative retinopathies and the need of seeking new therapeutic agents targeting both neovascular and neurodegenerative processes to treat this multifactorial disease.

3) **16:30-17:00hs: Molecular Mechanisms of PEDF Peptides in Retinal Degenerations**

S Patricia Becerra
National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, U.S.A.
becerras@nei.nih.gov

Abstract:

The generation of retinoprotective peptides that activate specific and selective targets in the eye is of interest due to their high potential therapeutic value in retinal dystrophies. The well-established actions of pigment epithelium-derived factor (PEDF) and its involvement in controlling retina homeostasis, make this protein a prime candidate for future ocular therapeutic applications. PEDF exerts neurotrophic, neuroprotective, antiangiogenic, gliastatic, antioxidant and antiangiogenic effects in the retina. It protects the retina from degeneration processes induced by cell death, pathological neovascularization, tumorigenesis and inflammation. Studies on protein structure and function have demonstrated that the multiple actions of PEDF rely on specific epitopes distributed throughout the protein and interactions with several targets, including specific surface receptors, orphan receptors or other proteins. Mapping of the biological active regions has made possible the isolation of individual and specific activities of this multifunctional protein. Protein fragmentation and chemical peptide synthesis have been employed in the design of small peptides that have retained independent activities of PEDF *in cellulo, ex vivo* and *in vivo*. Peptides of 17 residues designed from the PEDF neurotrophic domain recapitulate the properties of its full-length protein of about 400 residues. They hinder photoreceptor cell death by binding the PEDF receptor and stimulating its phospholipase activity to liberate fatty acids from phospholipids, which in turn act on downstream signaling cascades. Our findings point out that the neurotrophic PEDF peptides act via the PEDF receptor on extrusion of intracellular calcium, attenuation of calpain activity and regulation of Bcl2, Bax, and Aif for photoreceptor survival. The current knowledge of the molecular mechanisms of PEDF will be discussed.

This work was supported in part by the Intramural Research Program of the National Eye Institute, National Institutes of Health.

Commercial disclosures: NONE.

4) 17:00-17:30: Analysis of Choroid/RPE cell diversity using single cell RNA sequencing. Implications for choroid homeostasis and the pathogenesis and treatment of AMD.

Enrique Rodriguez-Boulan PhD; ·GL Lehmann [1]; C Hanke-Gogokhia [1]; Y Hu[2]; R Bareja[2]; M Ginsberg [3]; DJ Nolan [3]; A Wojcinsk [4]; O Elemento [2]; AL Joyner [4]; S Rafii [5]; I Benedicto [1] and E.

[1] Weill Cornell Medicine (WCM) Dyson Vision Institute NY: [2] WCM Dep. Physiology; [3] Angiocrine Biosciences, San Diego, CA, [4] Memorial Sloan Kettering Cancer Center, NY; WCM Dep Medicine, Regenerative Medicine.

Abstract:

The choroid is a highly vascularized layer of the eye localized between the sclera and the retinal pigment epithelium (RPE). Blood supplied by choroidal circulation is the main source of oxygen and nutrients for RPE and photoreceptors, as well as the main evacuation route for retinal waste. However, microvascular endothelial cells (ECs) are not just passive conduits for delivering blood. Rather, ECs also play tissue-specific functions by providing highly specialized sets of angiocrine factors at different body locations that maintain tissue homeostasis. However, the specific repertoire of factors expressed by choroid ECs and the identity of their target cells remain unknown. Moreover, the potential role of such intercellular crosstalk in choroid homeostasis has not been studied so far. Herein, we report the first single cell RNAseq analysis of adult mouse RPE/choroid tissue, identifying 13 main cell types including 3 subtypes of ECs. By combining these results with a transcriptomic analysis of tissue-specific ECs, we found a marked enrichment of Indian Hedgehog expression in choroid ECs, particularly in those located in close apposition to the RPE. Using reporter mice, we identified the target of choroidal Hedgehog (Hh) signaling as a large population of stromal, $GLI1^+$ perivascular mesenchymal stem cell-like cells. Stimulation of isolated $GLI1^+$ choroidal cells with a Hh agonist induced profound transcriptional changes related to immune response. Indeed, genetic manipulation of the Hh pathway *in vivo* resulted in significant loss of choroidal mast cells, altered inflammatory response and impaired visual function after retinal damage. In sum, we provide for the first time a comprehensive cellular and molecular landscape of the adult mouse choroid. Moreover, our studies have uncovered a Hh-mediated immunomodulatory signaling circuit originated in choroid ECs that may open new therapeutic avenues for immune-related choroidal and retinal disorders, such as AMD.

Sábado 27de octubre

RESÚMENES EXPOSICIONES ORALES

ACERCA DE SUSCEPTIBILIDAD PARTICULAR DE LA MACULA A LA DEGENERACION MACULAR ASOCIADA A LA EDAD NO EXUDATIVA

ABOUT THE PARTICULAR SUSCEPTIBILITY OF THE MACULA TO NON-EXUDATIVE AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Dorfman D, Dieguez HH, Romeo HH, Alaímo A, González Fleitas MF, Aranda ML, Sande PH, Rosenstein RE.

Introducción: La degeneración macular asociada a la edad no exudativa (AMDS) es la causa principal de ceguera en adultos mayores de 50 años años, y se caracteriza por la atrofia del epitelio pigmentario retiniano (EPR) y fotorreceptores (Fr) exclusivamente en la macula. El EPR macular se encuentra expuesto a un ambiente oxidante asociado a la demanda metabólica, niveles de elevados de especies reactivas de oxígeno y el flujo coroideo maculares. Se ha sugerido que el daño oxidativo del EPR macular podría estar involucrado en los mecanismos patogénicos de la AMDS. El hecho que sólo la mácula sea afectada por la AMDS, mientras que (al menos clínicamente) el resto de la retina permanece intacta, aún en etapas tardías de la enfermedad, plantea la pregunta de por qué la mácula es particularmente susceptible al daño por AMDS. Los modelos existentes de AMDS no reproducen las características centrales de la enfermedad humana. Recientemente, desarrollamos un modelo AMDS inducido por gangliectomía cervical superior (GCSx) en ratones C57BL/6J, que reproduce las características principales de la enfermedad, principalmente la localización de los daños, circunscriptos al EPR/retina neural central temporal.
Objetivo: En este contexto, el objetivo de este trabajo fue analizar las diferencias regionales en el sistema antioxidante endógeno, status mitocondrial, y estructura del EPR de animales naïve y luego de GCSx, que pudieran explicar la susceptibilidad localizada frente a AMDS.
Métodos: Se utilizaron ratones C57/BL6 macho adultos naïve y luego de 6 semanas post-GCSx unilateral. En estos últimos, el lado contralateral fue sometido a un procedimiento simulado. En EPR nasal y temporal se analizaron el contenido de melanina (histología), los niveles de enzimas antioxidantes (Western blot), y la masa mitocondrial. Luego de 6 semanas post-GCSx se evaluó la presencia de marcadores de daño oxidativo (4HNE, CML y MitoSOX), los niveles de enzimas antioxidantes y la masa mitocondrial.
Resultados: En el EPR temporal de animales naïve se encontró menor contenido de melanina, pliegues basales más altos, mayores niveles de enzimas antioxidantes y mayor masa mitocondria respecto al EPR nasal. En el EPR temporal (pero no nasal) la GCSx indujo una disminución significativa en los niveles de enzimas antioxidantes, un incremento en marcadores de daño oxidativo y una disminución significativa en la masa mitocondrial.
Conclusiones: Estos resultados demuestran la presencia de diferencias estructurales y metabólicas entre la región nasal y temporal del EPR de animales naïve, y efectos

diferenciales de la GCSx sobre estos parámetros. Además, sugieren que podría no ser la fisiopatología de la AMDS sino la estructura y metabolismo particular del EPR macular lo que condicione la localización de la enfermedad.

LA MELATONINA PROTEGE EL EPITELIO PIGMETARIO RETINIANO Y LA RETINA CENTRAL EN UN MODELO DE DEGENERACION MACULAR ASOCIADA A LA EDAD NO EXUDATIVA EN RATON. MELATONIN PROTECTS THE CENTRAL RETINAL PIGMENT EPITHELIUM AND RETINA ON A MICE MODEL OF NON-EXUDATIVE AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION.

Dieguez HH[1], Romeo EH[2], Alaimo A.[3], González Fleitas MF.[1], Aranda ML.[1], Sande PH.[1], Rosenstein RE.[1], Dorfman D.[1]
1. Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departo. Bioquímica Humana, Facultad de Medicina/CEFyBO, UBA/ CONICET, Buenos Aires, Argentina
2. Facultad de Ingeniería y Cs Agrarias, Universidad Pontifica Católica Argentina (UCA). IBIOMED/UCA/CONICET), Buenos Aires, Argentina.
3. Laboratorio Interdisciplinario de Dinámica Celular y Nanoherramientas, Departo. Química Biológica, Facultad de Cs Exactas y Naturales/IQUIBICEN, UBA/CONICET, Buenos Aires, Argentina.
Email del primer autor: her.die.14@gmail.com

Objetivo: La Degeneración macular asociada a la edad no exudativa (AMDS), es la principal causa de ceguera en personas mayores de 50 años, y se caracteriza por la atrofia del epitelio pigmentario retiniano (EPR) y fotorreceptores (Fr) exclusivamente en la macula. Actualmente, no existen terapias efectivas para prevenir o retrasar la pérdida de la visión inducida por AMDS. El EPR macular se encuentra expuesto a un ambiente oxidante asociado a la demanda metabólica, niveles de elevados de especies reactivas de oxígeno y el flujo coroideo maculares. Se ha sugerido que el daño oxidativo del EPR macular podría estar involucrado en los mecanismos patogénicos de la AMDS. Recientemente, desarrollamos un modelo AMDS inducido por gangliectomía cervical superior (GCSx) en ratones C57BL/6J, que reproduce las características principales de la enfermedad. Resultados preliminares demostraron que la GCSx induce estrés oxidativo circunscripto a la región temporal del EPR y la retina neural. La melatonina es una hormona que participa en la regulación de los ritmos circadianos y en diversos aspectos del funcionamiento fisiológico y se ha comprobado su efecto antioxidante y anti-inflamatorio en diversos modelos de neurodegeneración. En este contexto, el objetivo de nuestro trabajo fue analizar el efecto de la melatonina sobre las alteraciones inducidas por GCSx.
Métodos: En ratones C57/BL6 adultos, se realizó una GCSx unilateral, mientras que en el lado contralateral se realizó un procedimiento simulado. A las 48 h, una vez constatada la denervación simpática ocular, se implantó un pellet subcutáneo de melatonina que fue repuesto cada dos semanas. A las 4, 6, y 10 semanas post-GCSx, se evaluó la función retiniana (electrorretinografía escotópica, ERG), y se analizaron el contenido de melanina

(histoogía) los niveles de RPE65 (inmunohistoquímica) en el EPR. A las 6 semanas post-GCSx, se estudió la presencia de indicadores de daño oxidativo (4HNE, CML y MitoSOX). A las 10 semanas post-cirugía, se analizó la ultraestructura de la membrana de Bruch (MBr), EPR y FR (por microscopía electrónica. Finalmente, con el objetivo de evaluar la posible reversión de las alteraciones inducidas por GCSx, se implantó el pellet de melatonina a partir a las 4 semanas post-GCSx y se evaluó la función retiniana, el contenido de melanina y la inmunorreactividad para RPE65 a las 10 semanas post-GCSx.
Resultados: La melatonina, que no tuvo efectos *per se* sobre ningún parámetro estudiado, no revertió las alteraciones coroideas inducidas por GCSx, y no tuvo efectos sobre el sector nasal, evitó el daño oxidativo del EPR y la retina neural, y previno las alteraciones mitocondriales temporales luego de 6 semanas post-GCSx. Además, el tratamiento con melatonina previno significativamente la disfunción retiniana las alteraciones histológicas y ultraestructurales del EPR y la retina neural temporal a las 10 semanas post-GCSx. Finalmente, la aplicación de melatonina a las 4 semanas post-GCSx revirtió la disfunción retiniana, así como la perdida del contenido de melanina y la disminución en la inmunorreactividad de RPE65 a las 10 semanas post-GCSx.
Conclusiones: Estos resultados demuestran que la melatonina previno y revirtió las alteraciones en el EPR y retina neural inducidos por AMDS experimental y repodría ser considerada como un terapia efectiva para el tratamiento de la AMDS.
Financiamiento: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica [PICT 1623]; Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica [PICT 0356]; UBA [20020100100678]; CONICET [PIP 0446], Argentina.

LA CIANOTOXINA B-N-METHYLAMINO-L-ALANINE (BMAA) INDUCE DAÑOS NEURODEGENERATIVOS EN NEURONAS Y CÉLULAS GLIALES DE RETINA

THE CYANOTOXIN B-N-METHYLAMINO-L-ALANINE (BMAA) INDUCES NEURODEGENERATIVE DAMAGE IN RETINAL NEURONS AND GLIAL CELLS

Soto, Tamara; De los Santos, Beatriz; Rotstein, Nora; German, Lorena; and Politi, Luis.
Instituto de Investigaciones Bioquímicas (INIBIBB); Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.
tbsoto@inibibb-conicet.gob.ar

Objetivos: La cianotoxina β-N-metilamino-L-alanina (BMAA) es un aminoácido no proteico involucrado en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), y las enfermedades de Parkinson y Alzheimer. Estudios previos han reportado efectos tóxicos de la BMAA en animales. Sus mecanismos de acción a nivel celular y molecular son aún desconocidos. En este trabajo analizamos los efectos de la BMAA sobre neuronas de retina y células gliales de Müller in vitro.

Métodos: Se utilizaron cultivos neuronales puros y cultivos mixtos neuro-gliales de retinas de ratas recién nacidas. Los cultivos fueron incubados con BMAA (400 nM) y al cabo de 3 o 5 días se evaluó la supervivencia y la integridad nuclear con las sondas Ioduro de Propidio y DAPI, respectivamente. La preservación del potencial de membrana mitocondrial fue evaluada con Mitotracker; la integridad del citoesqueleto y el crecimiento axonal se evaluaron por técnicas inmunocitoquímicas con faloidina y con un anticuerpo anti-β tubulina.

Resultados: La BMAA aumentó significativamente la muerte celular y la apoptosis en las neuronas, de 10% a 33% y de 28% a 50%, respectivamente, un efecto que se correspondió con un descenso del potencial de membrana mitocondrial, de 77% a 50%. Además, cerca del 40% de las neuronas mostraron desorganización de la tubulina en los extremos axonales. En cultivos mixtos neurogliales, la BMAA indujo un aumento en la longitud de los axones, que fue bloqueado por LY294002, un inhibidor de la PI3-quinasa. La BMAA disminuyó el potencial de membrana mitocondrial en las células gliales, aunque no provocaron la muerte celular hasta los 13 días de cultivo, cuando mostraron un aumento en su fragmentación nuclear. Las células gliales en cocultivo no protegieron a las neuronas de la apoptosis inducida por BMAA.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que la BMAA afecta la viabilidad neuronal, causando apoptosis, y que las células gliales no son capaces de prevenir esta muerte, pese a incrementar el desarrollo axonal como respuesta inicial al daño. Las células gliales serían más resistentes a este daño, aunque presentan alteraciones mitocondriales que conducirían a su degeneración a tiempos tardíos. Los daños observados podrían estar en la base de las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la BMAA.

Subsidios: PGI 24/B235, y Proy. 5682, Univ. Nac. del Sur; ANPCYT: PICT 2016-0353; y CONICET: PIP 1122015.

TELEMEDICINA SMARTPHONE Y PREVENCIÓN DE CEGUERA: RETINOGRAFÌAS CON PROTOTIPO ODI -HF (OFTALMOSCOPIA DIGITAL INDIRECTA MANOS LIBRES). PROYECTO DE BIOMETRIA Y RECONSTRUCCIÓN DE IMÁGENES POR INTELIGENCIA ARTIFICIAL.

SMARTPHONE TELEMEDICINE AND PREVENTION OF BLINDNESS: MIO-HF PROTOTYPE RETINOGRAPHY (HANDS-FREE MOBILE INDIRECT OPHTHALMOSCOPY). AI (ARTIFICIAL INTELLIGENCE) BIOMETRY & IMAGES RECONSTRUCTION

Gabriela Saidman[1], Guillermo Monteoliva[1,4], Julio Urrets Zavalia[2], Adrian Salvatelli[3], Tomas Ortiz Basso[4], Fernando Giusio[4] y Rodrigo Torres[5]

1-Red ROP Zona Sur Buenos Aires RS VI / XI , Departamento de Oftalmologìa., Argentina 2.Clínica Universitaria “Reina Fabiola”, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina 3-Laboratorio de Sistemas de Información , Facultad de Ingeniería , UNERs, Oro Verde, Argentina 4-Hospital Italiano de Buenos Aires, Departamento de Oftalmologìa, Sección Telemedicina, Argentina 5-Centro de Ojos Dr Lòdolo, Paranà, Entre Rìos , Argentina. **Email expositor: gabysaidman@hotmail.com**

Objetivos: Reportar el desarrollo de un sistema de registro de retinografìas smartphone con técnica de manos libres (Hands-Free), logrando imágenes de alta calidad con costo/eficiencia. Y también presentar el proyecto de biometría y reconstrucción de imágenes mediante Inteligencia Artificial (AI) para redes de Telemedicina y Prevención de Ceguera.

Material y Método: el prototipo actual presenta un brazo ajustable para regular la distancia de trabajo con diferentes pacientes y lupas aplicado a un casco de oftalmoscopio indirecto en un extremo y un soporte con imanes en el otro extremo, para sostener el smartphone, para permitir al observador visualizar por la pantalla durante el examen. Se filma en modo UHD / 4K y se realiza el examen con la misma técnica que en la Oftalmoscopia Binocular Indirecta (OBI), colocando el smartphone en modo video con luz led de flash continuo, con zoom ajustado al 50% , según el tipo de lupa utilizada (20D, 30D, 28D, 40D, Super 66D).

Resultados: Esta técnica con manos libres permite alcanzar la periferia retinal , muy útil en el examen de ROP y otras patologías, prescindiendo de colaboradores para el registro . Además permite rotar el globo ocular y lograr filmaciones e imágenes por cuadrantes , permitiendo reconstruir imágenes mejorando el angular logrado. Además, el dispositivo impide el contacto directo con las manos del observador una vez seteado el teléfono, mejorando la seguridad del paciente.

Conclusiones: Aunque la fundoscopia smartphone puede realizarse con varias técnicas y dispositivos, este prototipo casco manos libres ha demostrado ser simple y fácil de utilizar, a bajo costo, lo que lo posiciona como una util herramienta para futuros proyectos de Telemedicina Smartphone y Prevención de Ceguera, tanto en ROP como en otras áreas de la oftalmología, capacitando a oftalmólogos en formación. La técnica permite lograr imágenes de calidad, que están siendo estudiadas mediante IA para mejorar la seguridad de las redes, y la seguridad del paciente (ID de estudio de paciente) y reconocimiento por IA de nervio óptico (biometria) y reconstrucción automática de imágenes por IA.

EFECTO DE NO2-OA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA REACTIVIDAD GLIAL EN CÉLULAS GLIALES DE MÜLLER

EFFECT OF NO2-OA ON THE OXIDATIVE STRESS AND GLIAL REACTIVITY IN MÜLLER GLIAL CELLS

María V. Vaglienti, Magali E. Ridano, Paula V. Subirada, Maria C. Paz, Pablo F. Barcelona, Gustavo R. Bonacci, María C. Sánchez.

Departamento de Bioquímica Clínica –CIBICI (CONICET), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, 5016 Córdoba, Argentina.

Las retinopatías proliferativas se encuentran entre las principales causas de ceguera irreversible. La patogénesis de la retinopatía diabética es multifacética, incluyendo cambios proinflamatorios, estrés oxidativo y nitrosativo, entro otros. Cambios metabólicos generados durante la diabetes alteran la barrera hemato-retinal, permitiendo la extravasación de proteínas plasmáticas como α_2-macroglobulina (α_2M), la cual es un inhibidor de proteinasas con capacidad de unir factores de crecimiento y citoquinas en el espacio extracelular. Trabajos previos de nuestro grupo han demostrado que α_2M induce incremento en los niveles proteicos de GFAP en células gliales de Müller (CGM). En los últimos años ha sido demostrado que los ácidos grasos-nitrados (NO_2-FA), tienen propiedades antiinflamatorias y citoprotectivas, mediadas por la activación de la vía antioxidante Keap1-Nrf2, entre otras. Estos antecedentes los convierte en moléculas de interés farmacológico asociadas a procesos isquémicos e inflamatorios como las retinopatías. Recientemente, demostramos que el tratamiento con ácido oleico nitrado (NO_2-OA) induce la activación del factor de transcripción Nrf2 en la línea de CGM humana inmortalizada (MIO-M1), a través del aumento en la expresión de genes, tales como hemo-oxigenasa 1 (HO-1). Considerando estos hallazgos, planteamos la hipótesis de que los NO_2-FA pueden modular la respuesta antioxidante y citoprotectiva en retinopatías neovasculares. Para ello, células MIO-M1 fueron preincubadas con NO_2-OA y luego estimuladas con H_2O_2 (50-200 µmol/l) durante 1h. Los resultados mostraron que NO_2-OA redujo el daño provocado por el H_2O_2. Posteriormente, con el propósito de analizar si el pretratamiento con NO_2-OA era capaz de prevenir la reactividad glial, células MIO-M1 fueron preincubadas con NO_2-OA por 30 minutos y luego estimuladas con α_2M por 2, 4 y 6 hs. Los resultados demostraron que el pretratamiento con NO_2-OA antes de las 6 hs de estimulo redujo los niveles de GFAP a niveles del control. En base a estos resultados, podemos concluir que el NO_2-OA puede actuar como un antioxidante protegiendo a las células retinales del daño provocado por el H_2O_2 así como del estrés glial producido por α_2M.

EL FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DEL EPITELIO (PEDF) Y SUS FRAGMENTOS NEUROTRÓFICOS PROMUEVEN LA SUPERVIVENCIA Y DIFERENCIACIÓN DE NEURONAS DE RETINA

THE PIGMENT EPITHELIUM-DERIVED FACTOR (PEDF) AND ITS NEUROTROPHIC FRAGMENTS PROMOTE SURVIVAL AND DIFFERENTIATION IN RETINA PHOTORECEPTORS

Germán Michelis[1,2]; Lorena German[2]; Nora P. Rotstein[2]; Luis Politi[2]; Patricia Becerra[1];
1. NEI-NIH, Bethesda, MD, United States. 2. Instituto de Investigaciones Bioquímicas (INIBIBB), Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

Objetivos: El factor derivado del epitelio pigmentado (PEDF) protege a células progenitoras de retina. Este factor y pequeños fragmentos pépticos derivados de su región neurotrófica interactúan estimulando la actividad fosfolipasica del tipo A2 de su receptor PEDF-R. Analizamos ahora los efectos del PEDF y sus fragmentos neurotróficos sobre la supervivencia y diferenciación de los fotorreceptores (FR).

Métodos: Cultivos puros de FR y neuronas amacrinas de retinas de ratas PN1 se incubaron a día 2 (DIV2) con PEDF o sus fragmentos neurotróficos 17-mer y 44-mer, o antiangiogénico 34-mer (10 nM); y/o en combinación con el péptido bloqueante P1 (100 nM), o el inhibidor selectivo de PEDF-R, Atglistatin; o vehículo (control). A DIV5 evaluamos la muerte celular por técnicas de TUNEL, Ioduro de Propidio y Annexina V, la funcionalidad mitocondrial con la sonda Mitotracker, y el desarrollo de neuritas y expresión de opsina por inmunocitoquímica. Determinamos la presencia del PEDF-R por citoquímica y Western blot y analizamos los cambios en el perfil de mRNA por medio del RT2 Profiler Array.

Resultados: Las neuronas expresaron y produjeron el PEDF-R, con una distribución en la membrana celular. El PEDF redujo la apoptosis de los FRs, preservando el potencial de membrana mitocondrial. La citometría de flujo evidenció dos poblaciones, una de estas marcada con Annexina V, la cual fue rescatada con PEDF. En los cultivos control, la opsina se distribuyó difusamente en las membranas celulares, mientras que el PEDF promovió su localización en los procesos apicales de los FR. El PEDF aumentó la longitud axonal en FR y amacrinas. Las preincubaciones con P1 o atglistatin abolieron estos efectos. Los péptidos 17-mer y 44-mer mimetizaron los efectos del PEDF sobre la supervivencia y expresión de opsina, mientras que el 34-mer no tuvo efecto. El PEDF modificó los patrones de expresión de mRNA, con los mayores aumentos a nivel del eje TRAF2-NFkB-Bcl2a1, junto con otros como Grb2, Akt1 y los genes involucrados en autofagia ATG5/12.

Conclusiones: Estos resultados muestran que el PEDF activa mecanismos de supervivencia en los FR y promueve la diferenciación tanto en los FR como en las neuronas amacrinas. Indican también que los fragmentos neurotróficos del PEDF son capaces de activar la supervivencia y diferenciación en los FR, que involucraría al mismo sitio activo del PEDF-R.

SUBSIDIOS: de Universidad Nacional del Sur; ANPCYT; CONICET y el Programa de Investigación Intramural del Instituto Nacional del Ojo, NIH (National Institutes of Health).

EXPOSICIÓN A UN AMBIENTE ENRIQUECIDO COMO ESTRATEGIA TERAPEUTICA EN UN MODELO DE GLAUCOMA EXPERIMENTAL

EXPOSURE TO AN ENRICHED ENVIRONMENT AS A TERAPEUTIC STRATEGY AGAINST AN EXPERIMENTAL MODEL OF GLAUCOMA

González Fleitas, F; Devouassoux, J; Aranda, M.; Chianelli, M; Keller Sarmiento, I; Diéguez, H; Sande, P, Dorfman, D; Rosenstein, R.

Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA, CEFyBO-CONICET. E-mail: florgf88@gmail.com

Objetivos: El glaucoma, una de las principales causas de ceguera, involucra la muerte de las células ganglionares retinianas (CGRs) y la pérdida de axones del nervio óptico (NO). El principal factor de riesgo para el desarrollo de la neuropatía óptica glaucomatosa es el aumento crónico de la presión intraocular (PIO). Sin embargo, en un porcentaje de pacientes con control efectivo de la PIO, la progresión de las alteraciones visuales persiste. En este trabajo analizamos el efecto de la exposición a un ambiente enriquecido (AE) sobre las alteraciones retinianas y del NO en un modelo de glaucoma experimental inducido por inyecciones de condroitín sulfato (CS).
Métodos: Ratas *Wistar* macho adultas fueron inyectadas semanalmente con vehículo o CS en cámara anterior y albergadas en ambiente estándar (AS) o AE durante 10 semanas. Se registraron los potenciales oscilatorios (POs) por electrorretinografía y los potenciales visuales evocados (VEPs) mediante electrodos en corteza visual primaria a las 10 semanas de tratamiento. Además, analizó el número de CGRs (inmunorreactividad para Brn3a), el número de axones en el NO por azul de toluidina y marcadores axogliales en retina y NO (microglía/macrófagos: Iba-1; axones: neurofilamento fosforilado (pNFH); mielina: proteína básica de la mielina (MBP)) por inmunohistoquímica. A las 6 semanas de tratamiento, se analizaron los niveles de BDNF como posible mecanismo de protección temprano del AE.
Resultados: La administración de CS provocó un aumento sostenido de la PIO que no se modificó por la exposición a AS o AE. A las 10 semanas de tratamiento, en los ojos inyectados con CS de los animales albergados en AS, se evidenció una reducción en las amplitudes de los POs y de los VEPs, así como una disminución en el número de CGRs y de axones. La hipertensión ocular crónica indujo un aumento del área Iba(+) en la retina a las 10 semanas. En la región proximal del NO, la administración de CS produjo un incremento en el área Iba1(+), una reducción en el área pNFH(+), así como signos de desmielinización evidenciados por una disminución en el área MBP(+). Estas alteraciones fueron prevenidas por la exposición al AE. A las 6 semanas de tratamiento, se observó un aumento en los niveles de BDNF en retinas de los ojos inyectados con CS de los animales albergados en AE.
Conclusión: Estos resultados sugieren que la exposición a un AE podría prevenir las alteraciones glaucomatosas en la retina y el NO por un mecanismo dependiente de BDNF.

ANÁLISIS PROTEÓMICO EN PTERIGION PRIMARIO AVANZADO

PROTEOMIC ANALYSES IN ADVANCED PRIMARY PTERYGIUM

Suarez MF[1], Barros MF[2], Gonzalez-Castellanos A[2], Guantay C[2], Urrets-Zavalía JA[2], Serra HM[1]

[1]Departamento de Bioquímica Clínica, CIBICI CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
[2]Servicio de Oftalmología, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Universidad Católica de Córdoba, Argentina. **E-mail: hserra@fcq.unc.edu.ar**

Objetivos: El pterigion se caracteriza por el crecimiento anormal en forma alada, de tejido epitelial y fibrovascular desde el limbo esclerocorneal invadiendo centrípetamente la córnea. Nuestro grupo realizó estudios proteómicos comparando especímenes provenientes de pacientes con pterigion avanzado y conjuntiva normal.
Métodos: Tejido conjuntival de zonas afectadas y no afectadas de conjuntiva fueron extraídas de pacientes con pterigion en estado avanzado que no presentaban otra enfermedad de la superficie ocular. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a la Declaración de Helsinki. Los especímenes fueron sujetos a extracción de proteínas seguida por fraccionamiento de las mimas con digestión “en solución”. El análisis de proteómica por espectrometría de masas se realizó en Orbitrap Q-Exactive (Thermo Fisher) y los resultados fueron analizados usando el software Thermo proteome discoverer 2.1 con las apropiadas bases de datos
Resultados: Las glicoproteínas más abundantes encontradas en pterigion fueron moléculas unidoras de proteínas (32,76%), seguido de moléculas con actividad catalítica (17,60%). Las glicoproteínas involucradas en la regulación de procesos biológicos fueron más ricas que las involucradas en procesos metabólicos (23,25 vs. 21,85). Componentes celulares glicoprotéicos fueron principalmente de citoplasma y citosol (28,89%), mientras que componentes de membrana representaron el 23,63%. Obtuvimos un perfil de proteínas para pterigion y conjuntiva normal. Perfiles comparativos entre ambos tipos de especímenes mostró la presencia de glicoproteínas comunes (192) y glicoproteínas únicas tanto en pterigion como en conjuntiva normal (473 vs. 272), respectivamente. Entre las glicoproteínas únicamente encontradas en pterigion podemos mencionar muchas proteínas séricas involucradas en respuesta inmune; en cascada de coagulación; transportador de vitamina D; proteína de reparación de escisión por radiación ultravioleta (RUV) RAD23 homológo B; dehidrogenasas; proteína 1 unidora de PAX3 y PAX7; subunidades de proteasoma; HSP 90; proteínas S100-A10 y A11; carboxi peptidasas de mastocitos; proteína unidora de GTP relacionada a Rho; factores de crecimiento de fibroblastos; proteína unidora de receptor de virus de hepatitis B; factor derivado de epitelio pigmentario y citoqueratinas.
Conclusión: Las glicoproteínas únicamente encontradas en pterigion sostienen el concepto de que su génesis involucra mecanismos multifactoriales tales como prolongada exposición a la RUV, estrés oxidativo, angiogénesis, procesos inflamatorios inmune, comportamiento anormal de las células troncales del limbo, desbalance entre

factores de crecimiento y apoptóticos, así como también transición epitelio-mesenquimal.
Agradecimientos: FONCyT 2016-0055; SECyT-UNC

ADHERENCIA AL EXAMEN ANUAL DE FONDO DE OJOS EN PERSONAS CON DIABETES LUEGO DE IMPLEMENTAR UN PROGRAMA DE SALUD BASADO EN TELE-DIAGNÓSTICO EN LA PROVINCIA DE LA PAMPA

ADHERENCE TO ANNUAL EYE EXAMINATION IN PEOPLE WITH DIABETES AFTER IMPLEMENTING AN E-HEALTH PROGRAM IN LA PAMPA PROVINCE

Tomas Ortiz Basso.
Centro Oftalmológico. Santa Rosa. La Pampa. tomasortizbasso@gmail.com

La diabetes es uno de los principales problemas que enfrenta la salud pública en el siglo XXI. Su prevalencia alcanza al 9% de la población mundial y se pronostica que siga en aumento durante las próximas décadas. Sus complicaciones imponen elevados costos humanos, sociales y económicos. Si no se empiezan a tomar estrategias globales de prevención, la sociedad puede verse muy afectada [(1)].
La retinopatía diabética es una de las principales complicaciones de las personas con diabetes, estimándose que hasta un 50% de las personas con diabetes tienen algún grado de retinopatía al momento del diagnóstico. Además, hasta el 10% presenta una retinopatía con amenaza visual severa, siendo la principal causa de pérdida de visión en personas adultas en edad laboral [(2)].
La ceguera por diabetes puede reducirse hasta en un 50% con un tratamiento médico adecuado, para ello es fundamental diagnosticar la retinopatía en forma temprana [(3)].
Las guías clínicas recomiendan un examen anual de fondo de ojos. Sin embargo, sólo un tercio adhiere a esta recomendación. Esto se debe principalmente a barreras geográficas, a falta de información y a falta de acceso a médicos especialista. Esta problemática se observa con mayor frecuencia en áreas rurales [(4)].
La telemedicina o e-salud surge como una alternativa para afrontar este problema. El uso de tecnología de la información y de la comunicación podría ofrecerles a las personas que se encuentran alejados la posibilidad de realizarse un examen anual de fondo de ojos y detectar en forma temprana las lesiones ocasionadas por la diabetes [(5)].
Existen estudios que demuestran al tele-diagnóstico como una estrategia costo-efectiva para abordar este problema y muchos países del mundo lo empezaron a adoptar como programa de tamizaje en forma exitosa [(6)]. La Argentina es un país que carece aún de un programa similar para mejorar el acceso de personas con diabetes.
Se propone investigar la implementación de un programa de salud basado en el tele-diagnóstico, evaluando si mejora la adherencia al examen anual de fondo de ojos en personas con diabetes tipo 2 de la zona rural de la provincia de La Pampa.

Referencias

1. IDF Diabetes Atlas. Available from: https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html
2. Kempen JH, O'Colmain BJ, Leske MC, Haffner SM, Klein R, Moss SE, et al. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. Arch Ophthalmol. 2004 Apr;122(4):552–63.
3. Saaddine JB, Honeycutt AA, Narayan KMV, Zhang X, Klein R, Boyle JP. Projection of diabetic retinopathy and other major eye diseases among people with diabetes mellitus: United States, 2005-2050. Arch Ophthalmol. 2008 Dec;126(12):1740–7.
4. Moss SE, Klein R, Klein BE. Factors associated with having eye examinations in persons with diabetes. Arch Fam Med. 1995 Jun;4(6):529–34.
5. Institute of Medicine (US) Committee on Evaluating Clinical Applications of Telemedicine. Telemedicine: A Guide to Assessing Telecommunications in Health Care. Field MJ, editor. Washington (DC): National Academies Press (US); 2010.
6. Sharafeldin N, Kawaguchi A, Sundaram A, Campbell S, Rudnisky C, Weis E, et al. Review of economic evaluations of teleophthalmology as a screening strategy for chronic eye disease in adults. Br J Ophthalmol. 2018 Apr 21.

ALFA-1-ANTITRIPSINA COMO MODULADOR DE LA EXPRESIÓN DE IRS1 DURANTE EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

ALFA-1 ANTITRYPSIN AS A MODULATOR OF THE EXPRESSION OF IRS1 DURING THE TREATMENT OF DIABETIC RETINOPATHY

Petrigliano M; Potilinski MC; Gallo JE.

Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional, Universidad Austral – CONICET, Pilar, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: petrigliano.micaela@gmail.com

La retinopatía diabética (RD) es una complicación común de la diabetes mellitus y es una de las principales causas evitables de ceguera. Múltiples tratamientos se encuentran disponibles a la fecha, incluyendo fotocoagulación por láser, intervenciones quirúrgicas tempranas y farmacoterapias. Previos estudios realizados por nuestro grupo de trabajo demuestran que la Alfa-1-Antitripsina (A1AT), una proteína de la familia de las serpinas, resulta eficaz en el tratamiento de la RD por medio de mecanismos antiinflamatorios. En este trabajo nos enfocamos en el estudio de las cascadas moleculares resultantes de dicho tratamiento con A1AT.
El sustrato de receptor de insulina I (IRS1) es una proteína que podría modular varios procesos celulares por insulina. Cuando es fosforilado por el receptor de insulina, se une específicamente a varias proteínas que contienen dominios SH2, tal como la subunidad p85 de kinasa de fosfatidilinositol-3, activándolas.
En este trabajo analizamos la expresión de IRS1 en un modelo *in vitro* de RD, bajo diferentes tratamientos con la A1AT.
Células ARPE-19 (ATCC® CRL-2302TM, Manassas, Virginia, USA) fueron cultivadas en DMEM/F12 (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) con 2µM L-glutamina, 100U/ml penicilina, 100µg/ml estreptomicina, and 10% SFB. Las células (pasajes 9 a 12) del primer tratamiento fueron incubadas *Over Night* con DMEM 5,5 mM glucosa (control), DMEM 5,5mM glucosa + 4.5mg/ml A1AT (Control+A1AT), DMEM 30mM glucosa (Diabéticas), DMEM 30mM glucosa + 4.5mg/ml A1AT (Diabéticas+A1AT). Para el segundo tratamiento se incubaron *ON* sin A1AT y luego se añadió la A1AT y se las incubó nuevamente *ON*. Para el tercer tratamiento se las incubó *ON* sin A1AT, luego se agregó la A1AT y se las incubó *ON*, y finalmente se retiró la A1AT y se las volvió a incubar *ON* antes de ser cosechadas en buffer RIPA para su análisis por Western Blot.
Los resultados son significativos bajo los tratamientos con A1AT posteriores al desarrollo de la enfermedad. Se puede observar como en las células con modelo de diabetes los niveles de IRS1 aumentan, y luego con el tratamiento con A1AT disminuyen. Esta variación afecta a toda la vía de señalización, incluyendo a los receptores GLUT. Y por lo tanto se puede estimar que resultaría un tratamiento prometedor para la RD en los casos en los que el daño se haya instalado.

PROPUESTA DE SISTEMA DE INFORMACIÓN BASADO EN NORMA DICOM PARA APLICACIONES OFTALMOLÓGICAS ORIENTADA A RETINOPATÍAS DEL PREMATURO (ROP)

PROPOSAL OF INFORMATION SYSTEM BASED ON DICOM STANDARD FOR OPHTHALMOLOGY APPLICATIONS ORIENTED TO RETINOPATHIES OF PREMATURE (ROP)

A. Salvatelli[1], G. Bizai[1], B. Drozdowicz[1], A. Hadad[1], D. Evin[1], R. Torres[2]
[1]Lab. de Sistemas de Información, Facultad de Ingeniería, Oro Verde, Entre Ríos. UNER.
[2] Centro de Ojos Dr. Lódolo, Paraná, Entre Ríos. asalvatelli@ingenieria.uner.edu.ar

Objetivos: La Dra SAIDMAN G. (S.G) y Monteoliva G (M.G.) han desarrollado un sistema de registro con un casco tipo oftalmoscopio indirecto y un telefónico móvil , dejando las manos libres y obteniendo videos del fondo de ojos y evaluar la ROP. Se propone definir líneas de trabajo en sistemas de análisis y mejoramiento de imágenes, con la finalidad de aportar valor agregado al diagnóstico, seguimiento y procesos de aprendizaje y formación de los profesionales relacionados con la ROP
Métodos: Evaluando videos que utilizan actualmente S.G y M.G se procede a: 1. Estandarizar y normalizar imágenes y/o video con técnicas de procesamiento digital de imágenes y visión por computadora. 2. Conformación de un smartphone, como una modalidad de imágenes y conformación a norma del archivo de video e imágenes DICOM. 3. Aplicación de métodos de “Bigdata, machine learning y convolutional neural network” para clasificación, seguimiento y análisis de metadatos de información.
Resultados: 1. Estandarización y Normalización de imágenes y Video: se han llevado estos videos e imágenes a un rango dinámico de color único, a un rendimiento de color estándar, y un brillo y contraste único. Además de medir la tolerancia al ruido de las mismas y segmentar el fondo retinal de toda la imagen automáticamente, y también conformar (registrar) el fondo retinal automáticamente.
2. Conformación de un smartphone como una modalidad de imágenes: implementando una APP que conforme al equipo y las imágenes en estándar DICOM, que soporta manejo de bases de datos WEB, asegura el envío con gran calidad y la integración de la misma con un PACS (Picture Archiving and Comunication System) de imágenes médicas y mensajería de un HIS (Hospital Information System). Lo cual garantiza que una red de telemedicina comparta “la misma imagen” sin pérdida de información garantizando la legalidad de la información.
3. Aplicación de métodos de Bigdata, machine learning, Convolutional neural network: Para analizar imágenes estándar, desde una base de datos y con grandes volúmenes de información, que permitan encontrar información relevante (que se puede pasar por alto), clasificarla y realizar un análisis inteligente de datos e imágenes.
Conclusiones: se han definido líneas de trabajo, donde la interacción multidisciplinaria está permitiendo mejorar el procesamiento de imágenes, para otorgar mayor seguridad, reproducibilidad y eficacia en ROP.. El presente trabajo podría ser ampliado a la evaluación de imágenes en otras patologías, como retinopatía diabética y degeneración macular senil.

CÉLULAS STEM/PROGENITORAS: SU POTENCIAL EFECTO NEUROPROTECTOR EN RETINAS FOTODEGENERADAS DE RATAS

STEM / PROGENITOR CELLS: ITS POTENTIAL NEUROPROTECTIVE EFFECT IN RAT PHOTODEGENERATED RETINAS

Mariana Bareiro, Manuel Soliño, Ester M. López, Manuel Rey-Funes, Cesar F. Loidl, Juan J. López-Costa
Instituto de Biología Celular y Neurociencia "Prof. E. De Robertis" (IBCN), UBA-CONICET, Facultad de Medicina (UBA), Paraguay 2155 (C1428ABG), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. E-mail: maia_bareiro@hotmail.com

Objetivo: La pérdida de neuronas es la causa de múltiples enfermedades neurodegenerativas tanto a nivel del SNC como de la retina. En esta última entre las enfermedades de mayor importancia se encuentran la Degeneración asociada a la edad (DMAE) y la Retinitis pigmentosa (RP). En nuestro laboratorio empleamos un modelo experimental de degeneración retiniana sometiendo ratas Sprague Dawley a iluminación contínua, este modelo remeda lo que ocurre en el ser humano, y permite estudiar nuevas estrategias terapéuticas en el tratamiento de la AMD. El uso de Células Madre/Progenitoras (SC) se ha convertido en un potencial tratamiento de las enfermedades degenerativas. El objetivo del presente trabajo fue aislar y reproducir las SC de la retina en neuroesferas(NS) para inyectarlas por vía intravítrea a los ojos fotodegenerados, y estudiar el posible efecto terapéutico de las SC.
Materiales y Métodos: Las SC de la retina se aislaron de la Zona marginal ciliar (ZMC) de retinas de ratas neonatales. Las células fueron disociadas mecánicamente y se cultivaron en un medio de promoción de NS. Simultáneamente, se sometieron ratas Sprague Dawley adultas a iluminación continua (12000 lux) durante 2, 5 y 7 días. Luego fueron inyectadas por vía intravítrea en un ojo con 5ul de SC ($5x10^3$ células) y en los contralaterales con vehículo como control. Una semana después los ojos se procesaron por inmunocitoquímica usando un anticuerpo primario anti-GFAP y la técnica de TUNEL.
Resultados: Los resultados preliminares demuestran que el tratamiento con SC de las retinas no evita la degeneración inducida por luz pero en todos los tiempos de iluminación estudiados se observó una disminución de la reactividad glial. Asímismo, si bien se observa apoptosis en la capa nuclear externa, las primeras observaciones revelan una tendencia a la disminución indicando un efecto protector en las retinas tratadas.
Conclusión: Postulamos que las SC podrían moderar la lesión de la retina, a través de la secreción de factores tróficos con diversas propiedades, entre ellas propiedades antiinflamatorias, con efectos beneficiosos lo que induce a profundizar los conocimientos mecanísticos de las mismas para mejorar el diseño de terapias regenerativas.
(Subsidiado por la Universidad de Buenos Aires, UBACYT 200-20130100675BA).

Modulación de la respuesta inflamatoria y antiviral en células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) a través de Receptores X Retinoideos (RXR): posible blanco terapéutico para enfermedades neurodegenerativas

Modulation of the inflammatory and antiviral response in retinal pigment epithelium (RPE) cells through Retinoid X Receptors (RXR): possible therapeutic target for neurodegenerative diseases

Ayala-Peña Victoria B[1, 2], Armiento Nieves[2], Scolaro Luis A[2], German Olga Lorena [1].
[1] Laboratorio de NeuroVirología, INIBIBB-Dept. Biología Bioquímica y Farmacia, UNS-CONICET. [2] Laboratorio de Virología, Dept. QB, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA-CONICET. olgerman@criba.edu.ar

Objetivos: La degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), principal patología que conduce a la ceguera en adultos, no tiene aún cura o tratamiento efectivo. Las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) tienen propiedades inmunomoduladoras y su degeneración contribuye al desarrollo de la DMAE. El estrés oxidativo está involucrado en la patogénesis de esta enfermedad, y la infección por el virus herpes simple tipo 1 (VHS-1) se propone como un factor de riesgo. Hemos demostramos que la activación de los RXR promueve la supervivencia de las células del EPR sometidas a estrés oxidativo, inhibiendo la translocación nuclear de NFkB.
Nuestro actual objetivo es estudiar si un potencial blanco terapéutico, la modulación de los RXR, podría disminuir la inflamación y alterar la respuesta antiviral.
Métodos: Para esto, las células del EPR humanas se trataron con H2O2 o se infectaron con HSV-1, y se suplementaron con diferentes agonistas selectivos de los RXR (HX630, LG100754 y LG100268). Estudiamos citoquinas pro y antiinflamatorias mediante qRT-PCR; la liberación de IL-10 por ELISA; la infectividad (título viral y efecto citopático-ECP) y la actividad del interferón (IFN); Vía NFκB por IC y WB.
Resultados: Nuestros resultados mostraron que 5 h de tratamiento con H2O2 estimula la transcripción de IL-6; y el pretratamiento con HX630 lo disminuye y aumenta los niveles de ARNm de TGFβ e IL-10. A las 2.5 h, HX630 aumentó la expresión de IL-10 más que a las 5 h, y su aumento no se observó en las células co-tratadas con H2O2 a las 2.5 h. Además, HX630 promovió la liberación de IL-10 a las 9 h, pero no en las condiciones co-tratadas con H2O2, lo que sugiere que este agonista podría estar modulando la liberación de IL-10 más tardíamente.
Por otro lado, la infección por HSV-1 generó un ECP característico y el tratamiento con LG100268 lo redujo, como al título viral, lo cual no fue observable en los tratados con LG100754. HSV-1 activó la vía NFkB, y disminuyó los niveles de ARNm de TGFβ, pero no alteró la actividad de IFN con respecto a las MOCK. Además, ambos agonistas regularon por disminución la vía de NFκB y la actividad de IFN, pero no lograron revertir la inhibición viral sobre la síntesis de ARNm de TGFβ.
Conclusiones: En conjunto, estos resultados sugieren que la activación de los RXR promovería una respuesta antiinflamatoria y la activación de algunas conformaciones de los RXR podrían alterar el curso de la infección viral en las células del EPR.
Subsidios: PGI 24/ZB68, UNS; ANPCYT: PICT 2016-0475 y Subsidio para Investigación Médica básica. Fundación Roemmers 2017.

DESARROLLO Y DESEMPEÑO DE UN MICROSENSOR PARA LA EVALUACIÓN DE LA SALUD OCULAR.

DEVELOPMENT AND PERFORMANCE OF A MICROSENSOR FOR THE OCULAR HEALTH EVALUATION.

Zalazar, Martín1; Mista, Christian1; Torres, Rodrigo.2

1. FI-UNER, Oro Verde, Entre Ríos.
2. Centro de Ojos Dr. Lódolo, Paraná, Entre Ríos.
E-mail: mazalazar@ingenieria.uner.edu.ar

Objetivos: Los problemas de superficie ocular son de alta prevalencia mundial (una de las primeras causas de consulta oftalmológica en el mundo). Las lágrimas tienen primordial importancia para mantener la salud ocular y han sido históricamente evaluadas en la oftalmología por métodos clínicos subjetivos.
Los avances de los sensores a escala micrométrica han revolucionado el campo del diagnóstico clínico. La microbalanza de cristal de cuarzo (QCM) es un dispositivo altamente sensible a las pequeñas variaciones de masa que ocurren en su superficie. Con el uso de una QCM, se propone una solución tecnológica original a partir del desarrollo de un dispositivo portable que permite la evaluación de la lágrima para abordar problemas de superficie ocular brindando resultados objetivos.
El presente trabajo caracteriza el desempeño de un microsensor de fluidos basado en una QCM para distinguir distintas lágrimas artificiales comerciales (LA).
Materiales y métodos: Se utilizó una placa Digilent Analog Discovery2TM como analizador de redes escalar para medir las propiedades eléctricas de la QCM y obtener su frecuencia de resonancia (F0) y disipación de energía (D) cuando trabaja en un medio líquido (LA). La QCM se diseñó y fabricó en el Laboratorio de Prototipado Electrónico e Impresión 3D de la FIUNER.
Las soluciones utilizadas fueron agua ultra pura (bi-destilada) y 8 tipos de LA de distinta composición. Se evaluaron los cambios en F0 y D, el cual representa un valor indirecto de la relación viscosidad/densidad ("fluidez") de la solución depositada. Los resultados se muestran en gráficas de cajas y resumen la estadística descriptiva utilizando 5 medidas: el valor mínimo, el primer cuartil, la mediana, el tercer cuartil y el valor máximo.
Resultados: En la Fig. 1 se resumen los comportamientos de cada muestra respecto a F0 y D. Las muestras 1,3 y 8 tuvieron un comportamiento muy similar, mientras que las muestras 4 y 7 presentaron menor frecuencia de resonancia.
Fig 1. Lágrimas artificiales: 1- Refresh Tears, 2- Optive, 3-PH Lágrimas, 4- Latlas gel, 5- Latlas tears , 6- Systane Balance, 7- Systane Gel, 8- Systane Ultra, y 9- Agua ultra pura.
Conclusiones: El sensor desarrollado ha sido capaz de discriminar distintos tipos de composición de las lágrimas artificiales evaluadas. Las muestras 4 y 7 presentaron

menor F0 debido a una mayor viscosidad de la lágrima artificial ya que ambas soluciones son geles. Futuros desarrollos nos permitirán evolucionar a un dispositivo comercial de uso clínico, para evaluar fluido lagrimal en condiciones de normalidad y patologías de superficie ocular con una toma de muestra simple, no invasiva y de manera reproducible.

Agradecimientos: El trabajo fue financiado con los proyectos PICT 2013, PID-UNER 2015 y Programa DTEC.

ALFA-1 ANTITRIPSINA MODULA LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS INFLAMATORIAS Y OTRAS PROTEÍNAS ESCENCIALES PARA LA RETINA EN CÉLULAS ARPE-19 CON ALTA GLUCEMIA.

ALPHA-1 ANTITRYPSIN AFFECT EXPRESSION OF ESSENTIAL AND INFLAMMATORY PROTEINS IN ARPE-19 CELLS EXPOSED TO HIGH GLYCEMIA.

Potilinski MC; Ortíz GA; Petrigliano M; Gallo JE.
Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional, Universidad Austral – CONICET, Pilar, Buenos Aires, Argentina.E-mail: constanza.potilinski@gmail.com

La retinopatía diabética (DR) se encuentra asociada a inflamación persistente y al daño en el lecho vascular. El tratamiento actual se encuentra enfocado en las etapas más severas de esta enfermedad. Resultados previos obtenidos por nuestro grupo, muestran que la Alfa-1 Antitripsina (A1AT) actúa como un agente anti-inflamatorio que podría jugar un rol en el tratamiento de la DR. De todas maneras, es importante saber cuál es el efecto del tratamiento con A1AT sobre otras proteínas relevantes para el normal funcionamiento de la retina y cuáles son los mecanismos moleculares involucrados. El epitelio pigmentario retinal (RPE) forma el componente epitelial de la barrera hemato-retiniana. La Conexina43 (Cx43) es la proteína de las uniones gap mayormente expresada en estas células. La sobreexpresión de la Cx43 ha sido asociada al edema y a la pérdida de la integridad vascular. IRS-1 y AS160 se encuentran involucrados en la vía de señalización de la insulina y se ven afectados en la diabetes. NFkB es un factor de transcripción clave en los procesos inflamatorios y se encuentra incrementado en la DR.

Evaluamos la expresión de Cx43, IRS-1, AS160, NFkB y otras proteínas asociadas a diferentes vías de señalización en un modelo *in vitro* de DR.

Células ARPE-19 (ATCC® CRL-2302TM, Manassas, Virginia, USA) fueron cultivadas en DMEM/F12 (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) con 2µM L-glutamina, 100U/ml penicilina, 100µg/ml estreptomicina, and 10% SFB. Las células (pasajes 9 a 12) fueron incubadas 16h con DMEM 5,5mM glucosa (Control), DMEM 5,5mM glucosa + 4.5mg/ml A1AT (Control+A1AT), DMEM 30mM glucosa (Diabéticas), DMEM 30mM glucosa + 4.5mg/ml A1AT (Diabéticas+A1AT). Las células fueron cosechadas en buffer RIPA para Western Blot o fijadas para inmunohistoquímica.

La A1AT disminuyó la expresión de la Cx43, IRS-1 y AS160 y NFkB. Además, redujo los niveles de expresión de AKT y pAKT1/2/3, indicando la participación de la vía PI3K/AKT. Esta vía, se encuentra asociada a las vías de señalización de la Insulina y Wnt. A su vez, asociado a la menor expresión de NFkB, se observó una disminución expresión de iNOS y TNFa.

Estos resultados soportan la hipótesis de que la A1AT modula la expresión de diversas proteínas involucradas en la respuesta inflamatoria y otras que son esenciales para el funcionamiento de la retina a través de las vías de señalización de la insulina, PI3K/AKT y Wnt. Todos estos resultados en su conjunto, muestran a la A1AT como una molécula prometedora para el tratamiento de la DR.

LA VÍA FOSFOLIPASA D MODULA EL PROCESO AUTOFÁGICO EN LAS CÉLULAS DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA EXPUESTAS A ESTRÉS INFLAMATORIO.

THE PHOSPHOLIPASE D PATHWAY MODULATES THE AUTOPHAGIC PROCESS IN RETINAL PIGMENT EPITHELIUM CELLS EXPOSED TO INFLAMMATORY STRESS.

Vicente Bermúdez[1,2], Paula E. Tenconi[1,2], Norma M. Giusto[1,2] , Melina V. Mateos[1,2]
[1]Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), CONICET. [2]DBByF-UNS, Bahía Blanca, Argentina. e-mail: bermudez@inibibb-conicet.gob.ar

Objetivos: la autofagia es un proceso catabólico altamente activo en las células del epitelio pigmentario de la retina (RPE) y cuya desregulación ha sido asociada a la patogénesis de diversas enfermedades degenerativas de la retina. Resultados previos de nuestro laboratorio demostraron la participación de las isoformas clásicas de la fosfolipasa D (PLD1 y PLD2) en la respuesta inflamatoria de las células del RPE. El objetivo del presente trabajo es caracterizar el proceso autofágico, y su modulación por la vía PLD, en las células del RPE expuestas a un modelo inflamatorio inducido por lipopolisacárido (LPS).
Métodos: células de RPE humanas (líneas D407 y ARPE-19) se expusieron a LPS (10 o 25 µg/ml) por 24 o 48 h. Se realizaron ensayos de western blot e inmunofluorescencia para evaluar el contenido de LC3II y SQSTM1/p62 (marcadores de autofagosomas) y la presencia de estructuras intracelulares punteadas p62- y LC3-positivas. Se utilizó bafilomicina A1 (BAF, 50 nM) para bloquear el flujo autofágico e inhibidores tempranos de la autofagia, 3-metiladenina (3-MA, 2 y 5 mM) y LY294002 (10 µM). El rol de la vía PLD se estudió utilizando inhibidores selectivos de PLD1 (VU0359595, 0.5 o 5µM) o PLD2 (VU0285655-1, 0.5 o 5µM). La viabilidad celular se evaluó por la técnica de reducción del MTT.
Resultados: el LPS indujo un aumento en los niveles de estrés oxidativo y en la activación del factor NFκB y una disminución de viabilidad de las células del RPE. Además, la exposición a LPS incrementó los niveles de LC3II y el contenido de estructuras punteadas LC3- y p62 positivas, tanto en células D407 como en ARPE-19. El bloqueo del flujo autofágico con BAF corroboró que el LPS induce la activación de la autofagia en las células del RPE. Por su parte, la inhibición de PLD1 y PLD2 incrementó los niveles de LC3II y el contenido de estructuras punteadas LC3- y p62- positivas inducidos por LPS. La inhibición de la autofagia con 3-MA y LY294002 empeoró la pérdida de viabilidad celular inducida por LPS mientras que los inhibidores de PLD1 y PLD2 previnieron la pérdida de viabilidad.
Conclusiones: nuestros resultados demuestran que en condiciones inflamatorias se reduce la viabilidad celular y aumenta la autofagia en las células del RPE. Nuestros hallazgos sugieren que el proceso autofágico mediaría protección celular frente a una injuria inflamatoria y que ambas isoformas de PLD serían capaces de modular dicho proceso.
Financiamiento: PICTs 2014-3352, 2013-2317

ESTEROIDES Y SUPERVIVENCIA DE FOTORRECEPTORES

STEROIDS AND PHOTORECEPTOR SURVIVAL

Melisa D. Marquioni Ramella, Pablo Tate, Mariela Marazita, Angela Suburo

Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional (IIMT), CONICET/Austral

mmarquio@austral.edu.ar

La supervivencia de los fotorreceptores está afectada en diversas retinopatías de origen genético y en la degeneración macular asociada con la edad. Las hormonas esteroideas tienen efectos neuroprotectores y diversas evidencias sugieren que la progesterona (PROG) y la dexametasona (DEX) podrían mejorar la supervivencia de los fotorreceptores. A fin de comparar los mecanismos de neuroprotección dependientes de estos esteroides, estudiamos su efecto en dos modelos de degeneración de fotorreceptores en ratón: las lesiones fototóxicas y las inducidas por mifepristona (MFP).

Se emplearon ratones balb/c machos (5-7 semanas) criados bajo iluminacíon cíclica (12 hs luz-12 hs oscuridad; ≤ 60 lux). Para generar daño los animales fueron expuestos 48 hs a 1500 lux, o recibieron una inyección de MFP (10 mg/Kg). En cada modelo, los ratones recibieron tratamiento esteroideo (DEX 4 mg/Kg, PROG 1-4 mg/Kg) durante dos días, mientras que los grupos controles recibieron solución salina. Los animales fueron sacrificados a los 2 días para la detección de diversos marcadores por Western blot (WB) o por inmunodetección in situ, o bien a los 7 días para determinar el espesor de la capa nuclear externa (CNE) como medida de la supervivencia de los fotorreceptores.

Las lesiones fueron semejantes en ambos modelos. La inmunohistoquímica para caspasa 3 clivada (CASP3) y la reacción TUNEL demostraron que solo los núcleos de los fotorreceptores presentaban signos de muerte celular. Asimismo, los WBs demostraron idénticos cambios en los marcadores de daño celular CASP3 y la histona H2AX fosforilada (p-H2AX).También fueron semejantes las modificaciones de las moléculas reguladoras de la muerte celular: BCL2, BCL-XL, BAX y BID, coherentes con un proceso de apoptosis. Solo se detectaron diferencias en los niveles de opsina, reducidos por el exceso de iluminación pero no afectados por MFP. Todas las lesiones fueron controladas por el tratamiento con DEX o PROG, de forma tal que a los 7 días, las pérdidas de núcleos en la CNE eran mínimas y estadísticamente no signicativas.

Concluimos que tanto PROG como DEX son neuroprotectores eficientes en las lesiones fototóxicas y las inducidas por MFP. Además, estas últimas sugieren que la supervivencia de los fotorreceptores depende de estas hormonas esteroideas.

Fondos: PICT 2013-3200 y subsidio rectorado universidad Austral

PARTHANATOS, UNA NUEVA VÍA ACTIVADA POR LA CERAMIDA PARA INDUCIR LA MUERTE DE LAS NEURONAS FOTORRECEPTORAS

PARTHANATOS, A NOVEL PATHWAY ACTIVATED BY CERAMIDE TO INDUCE PHOTORECEPTOR DEATH

Prado Spalm F.H., Vera M.S., Dibo M.J., Simón M.V., Politi L.E, y Rotstein N.P.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, 8000 Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. inrotste@criba.edu.ar

Objetivos: las retinopatías neurodegenerativas tienen etiologías muy distintas, pero comparten un rasgo común, la muerte de los fotorreceptores (FR). La ceramida (Cer), un esfingolípido bioactivo, ha sido propuesta como mediadora clave en la activación de esta muerte. Establecer los mecanismos intracelulares activador por la Cer es de gran importancia para identificar posibles blancos para prevenir estas enfermedades, aún sin tratamientos efectivos. Investigamos aquí las vías intracelulares que activa la Cer para inducir esta muerte.
Métodos: tratamos a cultivos neuronales puros de retina de rata con 10 µM C_2-acetilesfingosina (C_2-Cer), análogo permeable de la Cer. Evaluamos el efecto de inhibidores de distintas proteasas y de PoliADP ribosa polimerasa 1 (PARP1) sobre la muerte de los FR, determinada con ioduro de propidio, MTT, TUNEL y fragmentación nuclear. Analizamos la funcionalidad mitocondrial con la sonda MitoTracker, la localización subcelular del factor inductor de apoptosis (AIF), la formación de especies oxígeno reactivas (ROS) y de polímeros de poliADP ribosa (PAR).
Resultados: la exposición a C_2-Cer aumentó rápidamente la formación de ROS e indujo a las 6 hs. la muerte selectiva de los FR, disminuyendo su funcionalidad mitocondrial, pero sin modificar el número de células TUNEL-positivas. Un pan-inhibidor de caspasas no previno la muerte neuronal. C_2-Cer aumentó la formación de polímeros PAR, sintetizados por PARP1, y la translocación de AIF desde la mitocondria al núcleo, mientras que la inhibición de PARP1 previno dicha translocación y la muerte inducida por C_2-Cer. Un inhibidor de calpaínas también redujo la muerte de los FR y la translocación de AIF. En contraste, inhibidores de catepsinas, de autofagia y de necrosis programada no disminuyeron la muerte de los FR.
Conclusión: nuestros resultados sugieren que la C_2-Cer activaría una vía novedosa, independiente de caspasas, denominada Parthanatos. Esta vía involucra la sobreactivación de PARP1, que aumenta así la síntesis y unión de polímeros PAR a proteínas, la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, y la activación de calpaínas, procesos que llevan a la translocación nuclear de AIF y conducen a la inducción de la muerte de los FR.

RAPAMICINA: OTRA POTENCIAL ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA MODULAR LA NEOVASCULARIZACIÓN RETINAL PERO NO LA NEURODEGENERACIÓN

RAPAMYCIN: ANOTHER POTENTIAL TERAPEUTIC STRATEGY TO MODULATE RETINAL NEOVASCULIZATION BUT NOT NEURODEGENERATION

Subirada, PV[1]; Paz, MC[1]; Ridano, ME[1]; Vaglienti, V[1]; Barcelona, PF[1]; Chiabrando, GA[1]; Sánchez, MC[1].

[1]Departamento de Bioquímica Clínica, CIBICI-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Ante la diversidad de respuestas al tratamiento con anti angiogénicos y el complejo esquema de administración, en la actualidad se buscan nuevos blancos terapéuticos para las retinopatías neovasculares proliferativas. Estudios recientes postulan a rapamicina como una droga con gran potencial terapéutico por su acción inhibitoria sobre mTOR y en consecuencia sobre los niveles de VEGF. Sin embargo, no se ha estudiado hasta el momento su efecto sobre viabilidad y funcionalidad neuronal. En patologías neurológicas se ha descripto que la autofagia constituye un mecanismo de supervivencia, al incrementar la depuración de proteínas y organelas dañadas, aunque su activación excesiva podría inducir muerte celular. En este trabajo nos propusimos determinar en el modelo de retinopatía inducida por oxígeno(OIR): los cambios vasculares, neuronales y bioquímicos retinales subyacentes a una inyección intraocular de rapamicina. Para este propósito, ratones C57 / BL6 fueron expuestos a 75% de O_2 desde el día postnatal (P) 7 a 12, y luego fueron devueltos a condiciones ambientales (RA). Se usaron ratones de la misma edad mantenidos en RA como control. Los ratones recibieron una única inyección intraocular de rapamicina o PBS en P12 y se sacrificaron en P12, P17 y P26. Por western blot e inmunomarcación de LC3 y P62 se corroboró el incremento en el flujo autofágico en P12. *Flatmounts* de retinas P17 teñidos con isolectina B4, evidenciaron que el tratamiento con rapamicina disminuyo el área neovascular, pero no mejoro el área avascular, vasodilatación y tortuosidad capilar. Registros funcionales no mostraron mejoría en la funcionalidad retinal a P17 y P26, lo cual se correlacionó con idéntico número de células TUNEL positivas a ambos tiempos evaluados. En el mismo sentido, tampoco se observaron cambios significativos en los niveles de caspasa 3 total, proteínas de stress (GFAP) y detoxificantes (GS). Estos estudios evidencian que la activación del flujo autofágico regula eventos de neovascularización sin lograr cambios en el componente neuronal y glial.
Financiamiento: SeCyT-UNC, FONCyT.

EFECTOS RETINIANOS EN EL DAÑO DEL NERVIO ÓPTICO INDUCIDO POR NEURITIS ÓPTICA EXPERIMENTAL

Florencia Altschuler[1], María F. González Fleitas[1], Mónica S. Chianelli[1], Pablo H. Sande, Damián Dorfman[1], Ruth E. Rosenstein[1], Marcos L. Aranda[1].

[1]Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, CEFyBO, UBA/CONICET.

Introducción: La neuritis óptica (NO) es una afección que involucra inflamación primaria, desmielinización y lesión axonal en el nervio óptico que puede provocar ceguera. Un subconjunto de células ganglionares retinianas (CGRs) que expresa el fotopigmento melanopsina (mCGR) regula las funciones visuales del sistema no formador de imagen, como el reflejo pupilar (RP) y los ritmos circadianos.
OBJETIVO: El objetivo del presente trabajo fue analizar las consecuencias de la NO sobre la retina.
Métodos: Recientemente desarrollamos un modelo experimental de NO primaria en ratas a través de una microinyección del lipopolisacárido bacteriano (LPS) en el nervio óptico de ratas *Wistar* macho adultas.
Resultados: A los 4 días post-LPS, se observó un aumento en el área Iba-1 (+) retiniana (un marcador de microglía / macrófagos) que persistió hasta los 21 días después de la inyección, mientras que la inmunorreactividad para GFAP (astrocitos y procesos de células de *Müller*) aumentó 21 días después de LPS. Además, a los 21 días post-inyección, el LPS indujo una pérdida significativa del número de CGRs (por inmunorreactividad contra Brn3a), mientras que no se observaron cambios en el número de mCGRs. Además, la NO experimental indujo una disminución en el transporte anterógrado desde la retina al colículo superior y al núcleo supraquiasmático (mediante la inyección intravítrea de CTB) y una disminución en el RP evocado con luz blanca y azul.
Conclusión: Estos resultados sugieren que la NO experimental afecta la retina incluso en etapas tempranas; y si bien no indujo cambios en el número de mCGRs, alteró el sistema visual no formador de imagen, apoyando que las alteraciones de la fisiología circadiana podrían ser un riesgo para la calidad de vida de los pacientes con NO.

ESFINGOSINA-1- FOSFATO: UN NUEVO MEDIADOR EN LA MIGRACIÓN DE LAS CÉLULAS EPITELIALES DE LA RETINA EN LA RETINOPATÍA DIABÉTICA?

SPHINGOSINE-1- PHOSPHATE: A NOVEL MEDIATOR IN RETINAL PIGMENTED EPITHELIAL CELLS MIGRATION DURING DIABETIC RETINOPATHIES?

Simón MV, Vera MS, Prado Spalm FH, y Rotstein NP.

Instituto de investigaciones Bioquímicas, Depto. De Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur-CONICET (Mail: mvsimon@criba.edu.ar)

Objetivos: Las enfermedades proliferativas de la retina, como la retinopatía diabética, son causa frecuente de ceguera. Se caracterizan por la excesiva proliferación y migración de dos tipos celulares esenciales para el normal funcionamiento de la retina: las células gliales de Müller (CGM) y el epitelio pigmentado de la retina (EPR). Demostramos que la esfingosina-1- fosfato (S1P), un esfingolípido bioactivo, aumenta la migración de las CGM (Simón et al., 2015). Investigamos ahora si la S1P induce la migración de células del EPR, y si lo hace en un modelo *in vitro* de retinopatía diabética.
Métodos: Cultivos confluentes de ARPE19, línea de EPR humano, se suplementaron con S1P 5 µM por 24 h y la migración se analizó por el ensayo de cicatriz. Para evaluar si la S1P activa las vías ERK/MAPK, PI3K y/o p38 MAPK para inducir la migración celular, los cultivos fueron pre-incubados con U0126, Ly294002 o SB203580, antagonistas respectivos de dichas vías. Para determinar si la S1P activa al receptor de membrana S1P3, reconocido partícipe de la migración celular, los cultivos se pre-incubaron con su antagonista BML241; y para evaluar si la síntesis endógena de S1P, catalizada por la esfingosina quinasa 1 (SphK1) es requerida para inducir la migración, con SphKI2, inhibidor de SphK1. Para indagar el rol de la S1P en la migración epitelial en la retinopatía diabética, las ARPE19 se incubaron 48 h con alta glucosa (30 mM).
Resultados: El agregado de S1P estimuló la migración de ARPE19. Dicha migración se inhibió con la pre-incubación con BML241 y con Ly294002, U0126 y SB 203580, lo que sugiere que la S1P induce la migración del EPR a través de la activación del S1P3 y de las vías ERK/MAPK, PI3K y p38 MAPK. La pre-incubación con SphKI2 redujo la migración, que solo se recuperó parcialmente con el agregado de S1P, indicando que la síntesis endógena de S1P es crucial para promover la migración celular y la S1P exógena estimularía dicha síntesis. La alta glucosa estimuló la migración de las ARPE19, y la inhibición de la síntesis de S1P frenó dicha migración, lo que sugiere que la S1P endógena regularía la motilidad celular estimulada por la alta glucosa.
Conclusiones: Estos hallazgos permiten proponer un rol clave para el eje S1P/SphK1/S1P3 en la migración de las células gliales y epiteliales de la retina, exacerbada en la retinopatía diabética, y sugieren que la regulación de este eje constituiría un nuevo blanco terapéutico para el tratamiento de esta enfermedad.
Financiación: subsidios de SECyT, UNS; CONICET y FONCYT.

VALIDATION OF LASER-INDUCED CHOROIDAL NEOVASCULARIZATION (CNV) MOUSE MODEL.

VALIDACIÓN DE UN MODELO DE RATÓN DE NEOVASCULARIZACIÓN CHOROIDAL (CNV) INDUCIDA POR LÁSER.

Barcelona, PF1; Subirada, PV1; Sabbi, TN2; Márquez, MA2; Vaglienti, MV1; Ridano, ME1; Márquez, GE2; Paz, MP1; Luna, JD2; Sánchez, MC1.
1Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC. CIBICI-CONICET, Córdoba, Argentina.
2Departamento de Vítreo-Retina, Centro Privado de Ojos Romagosa, Fundación VER, Córdoba, Argentina.

Introducción: La degeneración macular relacionada con la edad (AMD) en su forma neovascular es una de la principales causa de pérdida de la visión en adultos mayores de 55 años. En el presente estudio, validamos un procedimiento establecido para la inducción de la neovascularización coroidea (CNV) en ratones. Este procedimiento consiste en la perforación de la membrana de Bruch mediante fotocoagulación inducida por láser, reproduciendo la forma neovascular de AMD.
Objetivo: Caracterizar el proceso neovascular y su impacto en la funcionalidad retinal así como su perfil inflamatorio. Trabajos previos realizados en nuestro laboratorio demostramos que tanto α2M y su receptor (LRP1) participan durante la NV retinal, por lo que también nos centramos en la participación del sistema α2M/LRP1.
Métodos: Ratones C57BL/6, 3-6 meses de edad, previamente anestesiados se les practicaron cuatro lesiones de fotocoagulación por ojo, con un láser de argón verde. Después de 7 días de realizadas las quemadura por láser, analizamos la lesiones de NV en flatmount de coroides-RPE mediante tinción con isolectina B4 utilizando microscopía confocal. Al mismo tiempo, mediante inmunotincion de marcadores específicos se caracterizaron las diferentes poblaciones celulares localizadas en el área de la lesión: CD105 (célula endotelial), NG2 (pericitos), F4/80 (microglia), así como la distribución del receptor LRP1 en estas células. Además, niveles de proteína de α2M y LRP1 fueron analizaron por ensayos de WB y el perfil inflamatorio, evaluado por los niveles de IL1β, IL6 y TNFα mediante ensayo de qPCR. La funcionalidad de la retina se evaluó mediante ERG escotópio.
Resultados: Pudimos estandarizar el tamaño de la lesión. Se observó una cantidad importante de célula endotelial y pericitos alrededor de la lesión. Mientras que las células de la microglia se localizaron en el área central y periférica de la lesión. Mientras que α2M y LRP1 mostraron un aumento en el nivel de proteína acompañado de un gran patrón de expresión en células cercanas a la lesión. Como así también se evidencio altos niveles de factores proinflamatorios y proangiogénicos. Las ondas a y b de ERG escotópicas se redujeron ($p < 0,05$) en los ojos de animal con la lesión CNV respecto al los que no recibieron el tratamiento con láser.
Conclusiones: Pudimos reproducir y validar el modelo CNV en nuestro laboratorio, que nos brinda la posibilidad de evaluar la participación del sistema α2M/LRP1.
Financiación: SeCyT-UNC 2017, FoNCyT 2015, FoNCyT 2016.

EFECTO PROTECTOR DE COMPONENTES BIOACTIVOS DE LA YERBA MATE SOBRE LAS LESIONES DE LA RETINA PROVOCADAS POR DAÑO OXIDATIVO

PROTECTIVE EFFECT OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF YERBA MATE ON RETINAL LESIONS INDUCED BY OXIDATIVE STRESS.

Pablo S. Tate, Mariela C. Marazita, Melisa D. Marquioni Ramella, Angela M. Suburo

Instituto de Investigaciones en medicina Traslacional IIMT-CONICET-Austral.

Objetivos: La Degeneración Macular Asociada con la Edad (DMAE) es una enfermedad progresiva que lleva a la perdida irreversible de la visión. Se postula que la senescencia celular prematura del epitelio pigmentario de la retina (EPR) podría jugar un papel principal en su etiopatogénesis. El estrés oxidativo es un inductor conocido de senescencia celular y tiene un papel principal en la progresión de la DMAE. Los polifenoles, micronutrientes presentes en la dieta, son capaces de dar protección frente a enfermedades degenerativas, previniendo el estrés oxidativo. La yerba mate es una importante fuente de polifenoles en nuestro país, siendo los ácidos cafeico (CAF) y clorogénico (CHL) dos de los más abundantes. El objetivo de este trabajo es estudiar el rol CAF y CHL en la protección frente a la degeneración del epitelio pigmentario de la retina (EPR) inducida por estrés oxidativo.
Métodos: Células ARPE-19 fueron tratadas con ácido cafeico (70 µM) o ácido clorogénico (100 µM) durante 2 horas y luego expuestas a H_2O_2 (150 µM) por 90 minutos. Se tomaron muestras a distintos tiempos luego del tratamiento y se evaluaron los niveles de p-CREB, Bcl-2 y γH2AX por Western Blot. Los niveles de ARNm de NRF2 y SOD2, genes involucrados en la respuesta al estrés oxidativo, fueron evaluados por qPCR.
Resultados: CAF y CHL aumentaron los niveles de p-CREB y Bcl-2 ($p < 0,5$) a 2 y 4 horas luego del tratamiento. Este incremento fue aún más evidente cuando las células fueron expuestas a daño oxidativo, donde además se redujo la fosforilación de la histona γH2AX en células tratadas. Ambos compuestos incrementaron los niveles de ARNm para NRF2 y SOD2 a las 2 y 4 horas luego de la exposición.
Conclusiones: Los polifenoles presentes en la yerba mate protegen del daño oxidativo aumentando la defensa antioxidante y los genes de supervivencia. Estos resultados sugieren que la yerba mate podría actuar como un importante nutracéutico en la prevención de la DMAE.

DETECTION OF ALTERATIONS IN THE RETINA THROUGH THE EVALUATION OF THE PUPILLARY REFLEX EVOKED BY RED LIGHT IN CANINES WITH CATARACTS

DETECCIÓN DE ALTERACIONES EN LA RETINA A TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DEL REFLEJO PUPILAR EVOCADO POR LUZ ROJA EN CANINOS CON CATARATAS

Iaquinandi Murtagh, A.[1]; Reyes, H.[2]; López Martínez, Lilian[3]; Sande Casal, P.[1]

1-Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, CEFyBO, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. 2-Clínica Oftalmológica Veterinaria Bucaramanga. 3-Centro Oftalmológico Veterinario La Estación.

Objetivo: El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la eficiencia del diagnóstico pre-quirúrgico de alteraciones de la retina a través de la evaluación del reflejo pupilar evocado por luz roja en caninos con cataratas, en comparación con el registro electrorretinográfico.
Métodos: En un ambiente oscuro, se adaptó al paciente durante 5 minutos y se iluminó el ojo con luz roja, se repitió la adaptación y se iluminó con luz blanca. En ambos casos, se evaluó cualitativamente el tamaño de la pupila en el ojo ipsilateral. Luego, se adaptó al animal durante 20 minutos y se registró el electrorretinograma (ERG). Se reclutaron 161 ojos caninos.
Resultados: Del total de ojos examinados, 69 presentaron alteraciones en el ERG (disminución de la amplitud de las ondas a y b y aumento de la latencia), de los cuales 59 no contrajeron las pupilas en respuesta a luz roja y 22 no respondieron a luz blanca. Los 92 ojos restantes presentaron un ERG normal, de los cuales 81 respondieron a la iluminación con luz roja y 84 a luz blanca.
Conclusión: La determinación del reflejo pupilar evocado por luz roja tuvo una sensibilidad del 88% en el diagnóstico de alteraciones retinianas para el estudio pre-quirúrgico de cataratas caninas. Si bien este método diagnóstico no reemplaza al ERG, es rápido, sencillo, no requiere sedación ni anestesia, es de fácil interpretación y de bajo costo operativo y por lo tanto, podría constituir un método predictivo relevante en la práctica oftalmológica veterinaria.

ROL CRÍTICO DEL RECLUTAMIENTO DE LEUCOCITOS EN EL DAÑO DEL NERVIO ÓPTICO INDUCIDO POR NEURITIS ÓPTICA EXPERIMENTAL

Marcos L. Aranda[1], Florencia Altschuler[1], María F. González Fleitas[1], Diego Guerrieri[2], Hernán H. Dieguez[1], Damián Dorfman[1], Ruth E. Rosenstein[1].

[1] Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, CEFyBO, UBA/CONICET.

[2]Laboratorio de inmunomoduladores y regeneración de órganos, Facultad de Medicina, CEFyBO, UBA/CONICET.

Introducción: La neuritis óptica (NO) es una afección que involucra inflamación primaria, desmielinización y daño axonal en el nervio óptico que conduce a la pérdida de células ganglionares retinianas (CGRs) y una disminución en el reflejo pupilar (RP) frente a un estímulo de luz y en la amplitud de los potenciales visuales evocados (VEPs). Las enfermedades neuroinflamatorias se caracterizan por la alteración de la barrera hemato-encefálica (BHE) y el aumento de la infiltración de leucocitos al sistema nervioso central.
Objetivo: El objetivo del presente trabajo fue analizar la implicación de la infiltración celular en el daño visual inducido por NO experimental.
Métodos: Para ello, se inyectó LPS o vehículo en el nervio óptico de ratas *Wistar* macho adultas. Se analizó la integridad de la BHE a través de la perfusión con azul de Azul de *Evans* en ratas quimeras WT-GFPþ / WT.
Resultados: A las 6 h después de la inyección de LPS se observó un aumento en la extravasación de Azul de *Evans* y en el número de células en el nervio óptico. A las 24 h después de la inyección, se identificaron células e-GFP (+) (probablemente macrófagos y neutrófilos) en los nervios ópticos inyectados con LPS. La NO experimental indujo un aumento en la inmunoreactividad para la quimiocina CCL2. La inyección de *Bindarit* (un inhibidor de CCL2) y la depleción de médula ósea (por irradiación gamma) impidieron significativamente el efecto de la NO sobre el RP, la amplitud de los VEPs y el número de CGRs. Con el objetivo de alterar la integridad de la BHE, se inyectó el activador de plasminógeno tisular (tPA) en el nervio óptico. La microinyección de tPA imitó el efecto de la NO sobre el RP y el número de CGRs.
Conclusión: Estos resultados indican que la pérdida de integridad de la BHE y el reclutamiento de leucocitos desempeñan un papel clave en el daño visual inducido por NO experimental.

EL SISTEMA ENDOCANNABINODE ES MODULADO POR EL ESTÍMULO LUMÍNICO EN EL SEGMENTO EXTERNO DE LOS BASTONES DE RETINA BOVINA

THE ENDOCANNABINOID SYSTEM IS MODULATED BY LIGHT IN ROD OUTER SEGMENTS FROM BOVINE RETINA

Estefania Chamorro Aguirre, Virginia Gaveglio, Susana Pasquaré
Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), Universidad Nacional del Sur
echamorro@inibib-conicet.gob.ar

El sistema endocannabinoide (SEC) está formado por los receptores cannabinoides (CB1, CB2, GPR55 y TRPV1), los ligandos que se unen a ellos, el 2-araquidonoil glicerol (2-AG) y la anandamida (AEA), y las enzimas responsables del metabolismo de estos lípidos. Estas moléculas están involucradas en mecanismos intracelulares de gran relevancia, teniendo funciones neuromoduladoras y neuroprotectoras. El SEC ha sido poco estudiado en la retina, si bien se ha demostrado su presencia, aún se desconoce su rol funcional en la visión. La entrada de luz al ojo es censada por moléculas receptoras ubicadas en los discos del segmento externo de las células fotorreceptoras. A este nivel, se inicia la conversión de la señal lumínica en señal eléctrica, proceso denominado fototransducción. El objetivo de la presente investigación fue determinar en el segmento externo de los bastones (ROS) la modulación del sistema endocannabinoide por el estímulo lumínico. Se evaluaron las actividades de las enzimas del metabolismo del 2-AG: la diacilglicerol lipasa (DAGL) y la lisofosfatidato fosfatasa (LPAPasa) (síntesis), y la monoacilglicerol lipasa (MAGL) (hidrólisis), en los ROS de retinas provenientes de ojos bovinos adaptados a la oscuridad (DROS) o expuestas a 3000 luxes por 30 minutos (LROS). DROS y LROS fueron purificados en un gradiente discontinuo de sacarosa y los ensayos enzimáticos se realizaron con sustratos radiomarcados. En LROS respecto a DROS la actividad de la DAGL se incrementó (103%), mientras que la actividad de la LPAPasa no mostró diferencias. El MAG, generado por la DAGL, se metabolizó a glicerol (37%) en ambas condiciones, lo que sugirió la acción de una MAGL. Esto se corroboró empleando MAG como sustrato exógeno, observándose un incremento (69%) en LROS. Los niveles de expresión proteica de las enzimas DAGLα y MAGL por Western blot fueron menores en LROS respecto a DROS. Por otra parte, en LROS aumentó la expresión de los receptores CB1 y CB2, disminuyó la del GPR55 y no se modificó la del TRPV1. Estos resultados evidencian que el SEC participaría activamente en el proceso de fototransducción.
Financiamiento: ANPCyT, SCyT-UNS, CONICET, CIC.

EFECTO NEUROPROTECTOR DEL AGONISTA DEL RECEPTOR CB1, ACEA, EN LA DEGENERACIÓN RETINIANA INDUCIDA POR LA LUZ.

NEUROPROTECTIVE EFFECT OF CB1 RECEPTOR AGONIST (ACEA) IN LIGHT INDUCED RETINAL DEGENERATION.

Soliño M[1], Bareiro M[1],Rey-Funes M[1], López EM[1], Caltana L[1], Brusco A[1], Peláez R[2], Larrayoz I[2], Martínez A[2], Girardi E[1] and López-Costa JJ[1].
[1]IBCN ¨Prof. E. De Robertis¨, Fac Med, UBA-CONICET; Fac Med, UBA-CONICET.
[2]Center for Biomedical Research of La Rioja (CIBIR), Logroño, Spain.

Objetivos: Los endocannabinoides son neuromoduladores cuyos efectos están mediados por receptores acoplados a la proteína G llamados CB1 y CB2. Los agonistas CB1 desempeñan un papel neuroprotector en modelos animales de glaucoma. La degeneración retiniana inducida por la luz (LIRD) es un modelo que se asemeja a las enfermedades degenerativas de la retina humana como la degeneración macular asociada con la edad (AMD). El objetivo de este trabajo fue evaluar el posible efecto neuroprotector de la modulación del receptor CB1 en LIRD.
Métodos: Los ojos derechos de ratas Sprague Dawley se inyectaron en forma intravítrea con ACEA (agonista CB1) o con AM251 (antagonista CB1) mientras que los ojos izquierdos recibieron el vehículo como controles. Después de 24 horas de iluminación continua (12,000 lux) las retinas se disecaron y se procesaron mediante qRT-PCR, Western Blot (WB), inmunohistoquímica (IHC) o técnica de TUNEL. Los anticuerpos para GFAP y para caspasa 3 activada se usaron en WB / IHC y WB respectivamente. Se cuantificaron las áreas inmunorreactivas para GFAP y el número de células TUNEL positivas. Todos los datos se analizaron estadísticamente mediante el test t de Student y las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0,05$.
Resultados: Los ojos tratados con ACEA mostraron niveles significativamente menores de ARNm de BAD, BCL2, CYP1A1, adrenomedulina y DAGL-B. Por el contrario, los ojos tratados con AM251 mostraron niveles significativamente mayores de ARNm de los genes apoptóticos BAD, BAX, BCL2, TNF; los receptores CB1, TRPV1 y Receptor para Arilhidrocarbonos; factores angiogénicos, adrenomedulina y VEGF y enzimas FAAH, DAGL-A y B y NAPE.
Los estudios de WB mostraron que las retinas de los ojos tratados con ACEA contenían niveles significativamente más bajos de caspasa 3 activada y GFAP. Por el contrario, los ojos tratados con AM251 mostraron retinas con niveles significativamente más altos de caspasa 3 activada y GFAP.
La ACEA disminuyó significativamente tanto la muerte celular apoptótica en la capa nuclear externa (ONL) como la activación de la célula Müller en retinas iluminadas. Por el contrario, AM251 aumentó significativamente tanto la muerte celular apoptótica en ONL como la activación de células Müller.
Conclusiones: La administración de ACEA (agonista de CB1) previo al estrés de iluminación fue neuroprotectora, mientras que AM251 (antagonista de CB1) empeoró el daño de la retina en LIRD. Aunque es necesario continuar investigando, el agonismo del receptor CB1 puede considerarse una posible estrategia neuroprotectora en la DMAE.
Subsidiado por la Universidad de Buenos Aires, UBACYT 200-20130100675BA.
Palabras clave: canabinoide, CB1, rata, retina, iluminación, degeneración, neuroprotección.

Respuesta pupilar en fumadores: un estudio preliminar

Pupillary response in smokers: a preliminary study

Constanza Tripolone[a], Eliza Lacerda[b], Luis Issolio[a,c], Pablo Barrionuevo[a].

a Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión - CONICET - Universidad Nacional de Tucumán - San Miguel de Tucumán – Tucumán – Argentina
b Universidade Ceuma - São Luiz – Maranhão - Brazil
c Departamento de Luminotecnia, Luz y Visión, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán - San Miguel de Tucumán – Tucumán - Argentina
mconstanzatripolone@gmail.com

Introducción
Existe evidencia de que el consumo de tabaco afecta funciones visuales como la percepción de color. Sin embargo no hay trabajos que evalúen su efecto en funciones no visuales como el reflejo pupilar; por lo menos de nuestro conocimiento. El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta pupilar en fumadores de tabaco. Se presentan datos preliminares.

Métodos
Nueve sujetos participaron de la experiencia, de los cuales 4 fueron no-fumadores (29 ± 1,8 años, grupo control) y 5 fueron fumadores hace mas de 7 años (32,4 ± 6). Los sujetos fueron seleccionados luego de realizar una encuesta sobre el historial de salud personal y familiar. Usando un fotoestimulador de 5 canales y un seguidor de ojo de alta velocidad (250 Hz), se midió la respuesta pupilar a la luz ante estimulación de pulso y de parpadeo. La estimulación de pulso fue realizada durante 1 segundo de luz azul o roja (después de adaptación a fondo azul). Usando parpadeo se estimularon fotoreceptores por separado. Además se realizaron tests de visión de color, transmitancia del ojo, difusión intraocular y agudeza visual.

Resultados
Para ninguno de los parámetros de los tests realizados se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo fumador. Sin embargo para el grupo de fumadores se encontró una tendencia de la respuesta pupilar a un pulso de luz azul que indica un retraso con respecto a la del grupo control (962ms vs 864ms), aunque esta diferencia no llega a ser significativa ($t=-2,06$, $p = 0,08$).

Conclusión
No se encontraron diferencias significativas en la respuesta pupilar debido al consumo de tabaco. La posibilidad de que la respuesta pupilar se ralentice debe ser confirmada con una muestra de sujetos mayor.

EFECTOS DE UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA EN LA INTEGRIDAD VASCULAR Y FUNCIONALIDAD NEURONAL EN LA RETINA DE RATONES HIPERCOLESTEROLÉMICOS

EFFECTS OF A RICH FRUCTOSE DIET ON VASCULAR INTEGRITY AND NEURONAL FUNCTIONALITY IN THE RETINA OF HYPERCHOLESTEROLEMIC MICE

Paz, MC[1]; Barcelona, P[1] Subirada, PV[1]; Ridano, ME[1]; Chiabrando, G[1]; Castro, C[2]; Sánchez, MC[1]

[1]Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC. CIBICI-CONICET, Córdoba, Argentina.
[2]Laboratorio de Biología Vascular, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo. IMBECU-CONICET, Mendoza, Argentina.

La Diabetes Mellitus tipo 2 es consecuencia del síndrome metabólico (SM), siendo la retinopatía diabética (RD) una de sus más serias complicaciones y causa ceguera en el mundo. En este trabajo se propuso analizar marcadores de la integridad vascular y de la funcionalidad neuronal, relacionados con estadios tempranos de la RD en un modelo de SM.
Se alimentaron ratones C57BL/6 (WT) and Apolipoprotein E *knockout* (ApoE-KO) con una dieta normal (DN) o una dieta con 10% de fructosa en el agua de bebida (DF) a partir de los 2 meses de edad. Se llevaron a cabo estudios cinéticos entre los 2 y los 6 meses de dieta.
El grupo ApoE-KO, espontáneamente hipercolesterolémico, mostró un aumento en LDL-Colesterol y, al ser alimentados con DF, mostraron también hipertrigliceridemia y disminución de HDL-Colesterol, además de hiperglucemia y un test de tolerancia a la glucosa alterado. El estudio de ERG escotópico, mostró una disminución en la amplitud de las ondas a y b y de los POs en el grupo ApoE-KO DF vs. WT DN, lo que correlacionó con un aumento en células TUNEL positivas. Se observó una elevada permeabilidad vascular en los ratones ApoE-KO FD, evidenciada por la extravasación de azul de Evans (e.v.) así como de albúmina y α2-Macroglobulina. Se observó expresión de GFAP en astrocitos pero no en células gliales de Müller (CGMs), indicando que no hay gliosis reactiva en las retinas de ApoE-KO FD, lo que correlacionó con una normal expresión de glutamina sintetasa, indicando integridad de las CGMs. Sin embargo, en flat de retinas completas se observó una disminución en la inmunoreactividad a GFAP, lo que podría explicar, en parte, la reducida integridad de la barrera hematorretinal. La expresión de RNAm de HIF y VEGF no se vio modificada en ningún grupo, indicando que los cambios observados, al tiempo evaluado, se asocian con estadios tempranos de la RD, sin características relacionadas con etapas de neovascularización.
Los resultados mostraron que los ratones ApoE-KO DF, los cuales reproducen características del SM humano, presentan disfunción vascular y neurodegeneración, sin alteraciones relacionadas a isquemia tisular. Por lo tanto, este modelo ofrece la oportunidad de estudiar estadios tempranos de la RD, cuya prevalencia aumenta en el mundo.
Financiamiento: SECYT, FONCYT

Modelo experimental de opacificación capsular posterior en conejos

Experimental model of posterior capsular opacification in rabbits

Manlla, Luis; Tártara, Ignacio; Campana, Vilma; Guaycochea, Mariana; Caballero, Gabriela; Cremonezzi, David;

Introducción: La opacificación capsular posterior (OCP) (catarata secundaria) sigue siendo un problema clínico importante, aparece en pacientes intervenidos quirúrgicamente para extraerles las cataratas. Esta forma de OCP puede tratarse mediante la ablación de la cápsula posterior con láser, procedimiento costoso que depende de tecnología avanzada y que se acompaña de un riesgo de complicaciones graves. Se requieren nuevos estudios para determinar los factores responsables de la aparición de OCP y su prevención, con el fin de simplificar la cirugía de cataratas y reducir la necesidad de tratamiento de la OCP.

Objetivos: determinar los diferentes grados de OCP en conejos, según el tiempo transcurrido posterior a la extracción del cristalino y su correlación histológica.

Materiales y métodos: Se utilizaron 5 conejos hembras de raza New Zealand (2,5 kg), a los que se les extrajo el cristalino claro del ojo izquierdo. Se realizaron controles semanales para evaluar la progresión del desarrollo de la OCP, sacrificando a los animales a diferentes tiempos para posterior estudio anatomopatológico y luego se fotografiaron los cortes. La evaluación se realizó con fotografías bajo control biomicroscópico con lámpara de hendidura. Se utilizó una escala subjetiva en cruces (+ a ++++) para evaluar el grado de OCP. El análisis estadístico se realizó con ANAVA – Prueba de Kruskal Wallis, considerando significativa la diferencia para $p<0,05$.

Resultados: La proliferación celular observada incrementó de forma similar en los 5 conejos: en el día 7 y 14 no se observaron modificaciones, en los días 21 (+), 28 (++), 35 (+++) y el mayor grado de OCP (++++) se observó a partir de los 42 días en todos los animales. Existe diferencia significativa entre los diferentes grados de OCP durante los días controlados ($p<0,0002$). Estos resultados condicen con los hallazgos en las microfotografías.

Conclusiones: La OCP que aparece en los conejos intervenidos nos permite tener un modelo animal válido para evaluar, en forma rápida y reproducible, lo que sucede en el ser humano, permitiendo estudiar la fisiopatogenia de la OCP y evaluar diferentes tratamientos para evitar su aparición o desarrollo.

Financiado con subsidios de la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba.

INSULINA INDUCE LA EXOCITOSIS DE LRP1 HACIA LA SUPERFICIE CELULAR DE CÉLULAS GLIALES DE MÜLLER

INSULIN-INDUCED EXOCYTOSIS REGULATES THE CELL SURFACE LEVEL OF LOW-DENSITY LIPOPROTEIN-RELATED PROTEIN-1 IN MÜLLER GLIAL CELLS

Virginia Actis Dato, María Cecilia Sánchez, Gustavo Alberto Chiabrando
Departamento de Bioquímica Clínica –CIBICI (CONICET), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

LRP1 es un miembro de la familia de los receptores de LDL que se expresa en las células gliales de Müller (CGM) de la retina y que además de su función como un receptor endocitico, regula diversos procesos como ser la motilidad y funcionalidad de estas células. En la retina, las CGM cumplen un rol fundamental de soporte estructural y funcional a neuronas y vasos sanguíneos retinales. Numerosas funciones de estas células pueden estar influenciadas por acción de la insulina, aunque el efecto de esta hormona en este tipo celular no está claro aún. En este sentido LRP1 es responsable de regular la actividad de las metaloproteinasas MMP-2 y MT1-MMP así como la expresión de la proteína GFAP en CGM. En estos procesos es fundamental el nivel de expresión de LRP1 en la membrana plasmática, lo cual estaría regulado desde el espacio extracelular por insulina, involucrando procesos de tráfico intracelular aún no establecidos. En el presente trabajo, investigamos si la insulina induce la exocitosis regulada de LRP1 hacia la superficie celular, como así también el efecto de la alteración de este tráfico en la respuesta a insulina en la línea celular derivada de células gliales de Müller humanas, MIO-M1. Nuestros resultados demostraron que la insulina promovió la translocación de LRP1 hacia la membrana plasmática desde pequeñas vesículas intracelulares que almacenaban este receptor (≤100 nm). Estas estructuras vesiculares estaban compuestas además por otras proteínas estructurales como sortilina y VAMP2, y también incorporaban el transportador de glucosa GLUT4 cuando este era ectópicamente expresado. Además, encontramos que este tráfico de LRP1 inducido por la insulina fue mediado por la activación intracelular del eje IR / PI3K / Akt, como así también por la participación de las GTPasas Rab8A y Rab10. Por último, mediante la utilización de versiones constitutivamente inactivas de Rab8A y Rab10 encontramos una alteración en la señalización intracelular inducida por insulina, lo que sugiere que el nivel de LRP1 en la superficie celular es fundamental para la activación del IR inducida por la insulina en células MIO-M1. Estos resultados podrían tener implicancias fisiopatológicas en los procesos de neurodegeneracion retinal que se producen durante la retinopatía diabética.