

VI Congreso de la Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología

El 13 y 14 de noviembre de 2009 se realizó en Buenos Aires el VI Congreso de la Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología (AIVO), capítulo internacional de la Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Estados Unidos. El comité organizador estuvo integrado por los doctores Ruth Rosenstein, J. Oscar Croxatto, Mario E. Guido, Luis Politti, Angela Suburo y Juan Gallo, miembros de la comisión directiva. Este evento contó con la desinteresada colaboración de ARVO a través de un *grant* de Alcon USA y de Laboratorios Pförtner.

En esta oportunidad contó con la destacada y valiosísima participación como invitada de la Dra. Debora B. Farber, investigadora del Jules Stein Eye Institute UCLA Center for Health Science, Los Angeles, California, Estados Unidos. La Dra. Farber obtuvo su doctorado en química orgánica en la Universidad de Buenos Aires y completó su posgrado en Química y Bioquímica en la Universidad de California. Es actualmente profesora de Oftalmología en la David Geffen School of Medicine, Universidad de California, Los Angeles. Se desempeñó como director asociado del Jules Stein Eye Institute y co-directora de Vision Science Division. Es miembro de UCLA Molecular Biology Institute y del Brain Research Institute. Ha descubierto varios genes cuyas mutaciones están asociadas con degeneraciones retinales y realiza investigaciones en el desarrollo de métodos de terapia génica para enfermedades hereditarias de la retina. Ha publicado más de 175 trabajos originales en revistas *peer review* y ha recibido numerosas distinciones. Las dos conferencias dictadas por la Dra. Farber estuvieron relacionadas con los últimos avances y futuros desarrollos en degeneraciones genéticas retinales: "Initial studies on microvesicles released by stem cells as potential tools for RNA and protein transfer" y "Caracterización de nuevos genes asociados con degeneraciones genéticas de retina".

El programa incluyó la presentación de 52 trabajos originales de investigación básica y clínica organizados en cinco módulos I. Superficie ocular, córnea y glaucoma; II. Retina, visión y catarata; III. Superficie ocular y farmacoterapia; IV. Retina básica y V. Retina clínica. Es de destacar que las presentaciones se realizaron en sesiones únicas atendidas por todos los asistentes y con una valiosa participación interactiva por parte de todos los investigadores básicos y oftalmólogos presentes. En ese entorno se realizó la asamblea anual con la elección de los nuevos miembros de la comisión directiva: presidente electo, Dr. Mario E. Guido, del Departamento de Química Biológica, Universidad Nacional de Córdoba, y secretario de Relaciones Institucionales, Dr. José D. Luna, de la Fundación VER, Centro Privado de Ojos Romagosa, Córdoba. A continuación se transcriben resúmenes seleccionados por el comité *ad-hoc* de AIVO.



RESUMENES

Estudio de la eficacia *in-vivo* de una nueva molécula en un modelo experimental de queratoconjuntivitis por adenovirus en conejosFerrari I^{1,2}, Berra A¹¹Laboratorio de Investigaciones Oculares, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires;²Hospital Oftalmológico "Pedro Lagleyze", Buenos Aires. ocular@fmed.uba.ar**Objetivos:** Evaluar la eficacia de una nueva molécula (32b) en un modelo de queratoconjuntivitis (ADV-QC) por adenovirus en conejo.**Métodos:** Conejos adultos de Nueva Zelanda (NZ) fueron tratados por vía tópica tres veces por día durante 21 días con tres concentraciones de 32b (10 µM, 50 µM y 100 µM) evaluando posibles signos de toxicidad ocular a la hora de la primera topificación y a 1, 2, 3, 4, 7, 11, 14 y 21 días posteriores a la primera aplicación. Otro grupo de conejos NZ fueron anestesiados y su córnea central fue inoculada en el estroma formando 5 abones (50 µl de ADV-5, (3,5 x 10⁸ ufp/ml)), se realizó una escarificación corneal en el tejido entre los abones y por vía tópica aplicación adicional de 50 µl de ADV-5 (3,5 x 10⁸ ufp/ml). Tres concentraciones de 32b (10 µM, 50 µM y 100 µM) se administraron por vía tópica en la córnea infectada, tres veces al día, siguiendo un esquema de tratamiento (1 a 21 días postinfección (p.i.) y evaluando clínicamente signos de conjuntivitis, blefaritis, edema corneal e infiltrados inmunológicos a los días 4, 7, 11, 14 y 21 días p.i., respectivamente. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Chi cuadrado.**Resultados:** El compuesto 32b en sus diferentes concentraciones (10 µM, 50 µM y 100 µM) no mostró signos de citotoxicidad ocular. Conejos infectados sin tratamiento desarrollaron conjuntivitis aguda 1-8 p.i, blefaroconjuntivitis y edema corneal (9-21) y la infiltración inmune a partir del día 15 p.i. La gravedad de la enfermedad (conjuntivitis aguda, blefaroconjuntivitis y el edema corneal) disminuyó significativamente en conejos tratados con el compuesto 32b (100 µM) y no mostraron signos de infiltración corneal inmunológica con respecto del control de los animales infectados.**Conclusiones:** El compuesto 32b muestra una reducción en la incidencia y la gravedad de la queratoconjuntivitis (ADV-QC) cuando se administra bajo el calendario de tratamiento. Estos datos sugieren que el compuesto 32b podría ser una nueva droga para la queratoconjuntivitis epidémica.**Patente:** CONICET (Ramirez J, Michelini F, Ga-

lagovsky L, Berra A, Alche L). Aplicación en Argentina: P070103089; aplicación en World Intellectual Property Organization: WO/2009/007895 International application No.: PCT/IB2008/052703.

Evaluación de la función inmune conjuntival en ratones tratados con conservantes tópicos. Probable rol del epitelio conjuntivalJeremías Galletti^{1,2}, Mirta Giordano²¹Laboratorio de Inmunooncología, IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires; ²División Oftalmología, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Buenos Aires. jeremiasg@gmx.net**Objetivos:** Comparar la función tolerogénica conjuntival en ojos murinos tratados con conservantes tópicos. Evaluar la capacidad de presentación antigénica del epitelio conjuntival murino.**Métodos:** Se administró durante 5 días cloruro de benzalconio (BAK) al 0.01% o PBS en forma tópica en ambos ojos y luego ovalbúmina (OVA) a ratones y a los 7 días se obtuvieron los ganglios drenantes de conjuntiva o se inmunizaron con OVA. Cultivos de epitelio conjuntival murino a partir de explantes utilizando fibroblastos como células de apoyo para evaluar capacidad de presentación antigénica en ensayos de cultivo mixto linfocitario.**Resultados:** La respuesta proliferativa a OVA (analizada como índice de estimulación promedio y error estándar) en ratones tratados en forma tópica con este antígeno fue menor (1,88±0,21) a los controles (4,90±0,15, p<0,01). En los ratones cuyos ojos fueron tratados con BAK antes de la instalación de OVA la respuesta fue mayor (2,74±0,19, p<0,05) pero aún así inferior a la respuesta control (p<0,01). En acuerdo con estos datos, la capacidad supresora de las células de los ganglios drenantes de conjuntiva de ratones tratados de igual modo fue mayor en el grupo que recibió OVA (1,95±0,11, p<0,05) que en el grupo control (2,52±0,16) y en el grupo tratado previamente con BAK (2,69±0,25, p=0,053).

Por otro lado, cultivos de epitelio conjuntival murino mostraron un rol supresor (analizados como proliferación alogénea en relación con proliferación singénea y comparación con fibroblastos solos) en cultivo mixto linfocitario (0,611±0,05 vs 0,639±0,13, p=0,85) pero fueron estimulatorios cuando fueron pretratados durante 24 hs con IFNγ (3,33±0,37 vs 1,08±0,09, p<0,01) o LPS (1,72±0,11 vs 1,04±0,09, p<0,01).

Conclusiones: El tratamiento tópico durante 5 días con BAK afectó parcialmente la capacidad tolerogénica de la mucosa conjuntival utilizando OVA como antígeno modelo y tuvo efecto directo sobre la inducción de supresión en ganglios locales. Por otra parte, el epitelio conjuntival murino tiene capacidad presentadora antigénica cuando se enfrenta a estímulos inflamatorios como IFN γ y LPS, teniendo probablemente un rol en la inducción de tolerancia conjuntival.

Suramab subconjuntival inhibe la neovascularización corneal

Emiliano S. López¹, J. Oscar Croxatto², Juan E. Gallo³

¹Area de investigación, Universidad Austral, Pilar, Buenos Aires; ²Servicio de Patología Ocular, Fundación Oftalmológica Argentina "Jorge Malbran", Buenos Aires; ³Servicio de Oftalmología, Hospital Universitario Austral, Pilar, Buenos Aires.

Objetivos: En experimentos previos hemos encontrado que el suramab (compuesto por suramina sódica y bevacizumab) endovenoso tiene un importante efecto antiangiogénico debido al efecto sinérgico entre ambas drogas que lo componen. El propósito de este estudio es evaluar el efecto antiangiogénico del suramab por vía subconjuntival.

Métodos: Se indujo la formación de neovasos corneales aplicando un disco de papel de filtro embebido en 1M Na (OH) en el centro de la córnea de conejos White New Zealand. Se formaron tres grupos compuestos por nueve conejos cada uno. El grupo uno fue tratado después de la lesión con suramab EV (bevacizumab 3 mg/kg+suramina 20 mg/kg). El grupo 2 fue tratado después de la lesión con suramab subconjuntival (bevacizumab 1,5mg/kg+ suramina 7mg/kg) y el grupo 3 no recibió tratamiento y fue nuestro control. Se tomaron fotos digitales a los 9, 15, 21 y 35 días pos-lesión. Se calculó el índice de neovascularización (INV) utilizando el programa jimage. La formación de neovasos fue cuantificada dando un *score* de 0 a 4 a cada cuadrante según el grado de crecimiento centripeto del vaso más largo. Los *scores* de los cuatro cuadrantes se sumaron para obtener el INV.

Resultados: El INV en los grupos tratados fue notoriamente menor a lo largo de todo el experimento. A los 9 días de la lesión, el INV fue mayor en el grupo control (INV promedio: 4,77) comparado con los grupos tratados con suramab endovenoso (INV promedio: 1,55) y subconjuntival (INV promedio: 1,57).

A los 9 días de la lesión los resultados fueron similares con ambas vías de administración. Sin embargo, a los 15 días el efecto antiangiogénico fue superior en el grupo tratado por vía endovenosa.

Conclusiones: La administración endovenosa y subconjuntival de suramab redujo la neovascularización corneal pero la duración del efecto fue menor usando la vía subconjuntival. Más experimentos serán realizados para analizar la biodisponibilidad del suramab y para diseñar un dispositivo ocular de liberación de droga.

Evaluación del estatus antioxidante del humor vítreo en perros con glaucoma primario

Weichsler N¹, Moranchel C², Ferreira S³, Llesuy S⁴, Herrera HD⁵

¹Unidad de Oftalmología, Hospital Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires; ²Laboratorio de Stress Oxidativo, Cátedra de Química General e Inorgánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. nw@fvvet.uba.ar

Objetivos: Evaluar el estatus antioxidante del humor vítreo de perros con glaucoma primario determinando el potencial reactivo antioxidante total (TRAP) y las concentraciones de glutatión y ácido ascórbico.

Métodos: Se utilizaron 15 caninos (8 hembras y 7 machos) con un promedio de edad de 7,06 años (DS= 2,21; rango: 5-13 años) con glaucoma primario diagnosticado mediante biomicroscopía, oftalmoscopia directa, indirecta, tonometría de aplanación y gonioscopia. En el momento de la toma de muestra la media de presión intraocular (PIO) fue de 58,86 mmHg (DS= 14,22 mmHg; rango: 45-90 mmHg). Se incluyeron 12 cadáveres como control que habían fallecido por causas traumáticas y las muestras fueron tomadas dentro de las dos horas de fallecidos. Se tomaron en todos los casos muestras de 1 ml de vítreo mediante una punción con aguja 21G. Todas las muestras fueron mantenidas a -15°C hasta su procesamiento. El TRAP del humor vítreo se determinó por luminiscencia en un sistema formado por 2,2'-azo-bis-amidinopropano (ABAP) y luminol que genera una emisión de luz constante que disminuye hasta niveles basales cuando los antioxidantes presentes se consumen. La curva de calibración se realizó con Trolox 150 mM (análogo hidrosoluble de la vitamina E). Los resultados se expresaron en mM de Trolox. El ácido ascórbico fue medido en 5 muestras

de pacientes con glaucoma y en 7 de muestras control, mientras que el glutatión se midió en dos pacientes con glaucoma y dos controles del total de las muestras incluidas en el estudio. Para la medición del ácido ascórbico y el glutatión se utilizó espectrofotometría y se leyó la absorbancia a 700 y 412 nm respectivamente.

Resultados: El valor de TRAP en el humor vítreo de los ojos de perros con glaucoma fue de $42,93 \pm 31,51 \mu\text{M}$, mientras que el valor del TRAP en el humor vítreo de los ojos de los perros del grupo control fue de $172,5 \pm 42,4 \mu\text{M}$ ($p < 0,001$). El valor promedio de ácido ascórbico de los vítreos de los perros con glaucoma fue de $56,34 \pm 37,4 \mu\text{M}$, mientras que el valor promedio del grupo control fue de $142,7 \pm 80,6 \mu\text{M}$ ($p < 0,001$). El valor promedio de glutatión de los vítreos de los perros con glaucoma fue de $1,39 \pm 0,16 \text{ mM}$, mientras que el valor del grupo control fue de $1,29 \pm 0,05 \text{ mM}$.

Conclusiones: Tanto los valores de TRAP como los de ácido ascórbico se encontraron significativamente disminuidos en los vítreos de perros glaucomatosos. Los valores de glutatión en las muestras procesadas no mostraron diferencias significativas entre los vítreos normales y los glaucomatosos.

Efecto del condroitin sulfato sobre la presión intraocular en ratas

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

Objetivo: El glaucoma, una de las principales causas de ceguera, se caracteriza por la pérdida de las células ganglionares y fibras del nervio óptico. La presión intraocular (PIO) es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. El aumento de la PIO está asociado con alteraciones en la dinámica del humor acuoso debido a cambios en la red trabecular y al aumento en la resistencia al drenaje de humor acuoso. Los glicosaminoglicanos (GAGs) son componentes clave de la matriz extracelular de la red trabecular y participan activamente en el control de la PIO. Estudios en humanos han identificado el contenido de GAGs en la red trabecular y demostraron que el ácido hialurónico (AH) y el condroitin sulfato (CS) son los GAGs predominantes. En pacientes con glaucoma de ángulo abierto se observó una disminución

significativa en el contenido de AH y un aumento en el contenido del CS. Se analizó el efecto del aumento en los niveles de CS en la cámara anterior de la rata sobre la PIO, así como el efecto de un tratamiento crónico con CS sobre la función y la histología retinales.

Métodos: Se utilizaron ratas *Wistar* macho con libre acceso a agua y comida. Se inyectó CS (una única inyección o 1 vez/semana) en la cámara anterior de un ojo y vehículo en el ojo contralateral. Se evaluó la PIO a distintos períodos luego de la inyección de vehículo o CS. La función retinal se evaluó a las 6 y 10 semanas de tratamiento semanal con CS por electroretinografía escotópica (ERG) y determinación de potenciales visuales evocados (VEP). Asimismo se cuantificó el número de células en la capa de células ganglionares (CCG) luego de 10 semanas de tratamiento.

Resultados: Se observó un aumento significativo en la PIO en animales inyectados con CS (40%) a las 24 horas que persistió a lo largo de 7 días. Tanto a las 6 como a las 10 semanas de hipertensión ocular se observó una disminución significativa en la amplitud de la onda a ($p < 0,01$) y onda b ($p < 0,01$) del ERG así como de la onda 4 del VEP a las 10 semanas de tratamiento ($p < 0,01$). Se observó una caída significativa en el número de células en CCG luego de 10 semanas de tratamiento ($p < 0,01$).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el aumento en los niveles de CS en la cámara anterior podría desempeñar un rol causal en la neuropatía glaucomatosa.

La sincronización fótica del comportamiento de alimentación es mediada por diversos fotorreceptores retinales y extra-retinales

Valdez DJ, Nieto PS, Guido ME
Departamento de Química Biológica (CIQUI-BIC-CONICET), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
diego@mail.fcq.unc.edu.ar

Objetivos: En el sistema circadiano de las aves las estructuras encargadas de captar la luz y sincronizar distintos ritmos fisiológicos son la retina, la glándula pineal y posiblemente también los fotorreceptores del encéfalo profundo. En este estudio decidimos investigar la interacción entre estos componentes en la regulación de los ritmos de ingesta de alimentos en pollos normales y ciegos (*GUCY1**, ceguera similar a la amaurosis congénita de Leber de humanos).

Métodos: En animales *GUCY1** y normales de 20

días de edad se midió el ritmo de ingesta de alimentos con o sin su glándula pineal cubierta; estos animales fueron sincronizados a un ciclo de luz-oscuridad de 600 lux de luz blanca fría, luego se mantuvieron en luz blanca constante de 100 lux por 8 días, al décimo sexto día los animales se sincronizaron a luz-oscuridad con luz azul de \approx 600 lux y finalmente se les aplicó un adelanto o atraso de fase en las mismas condiciones de iluminación. En otra serie de experimentos se sometieron animales GUCY1* a ciclos de luz-oscuridad de intensidades decrecientes.

Resultados: Tanto los animales GUCY1* como los normales sincronizaron sus ritmos de alimentación al ciclo de luz-oscuridad con luz blanca, mientras que aquellos pollos GUCY1* con su pineal cubierta manifestaron comportamiento en corrida libre en condiciones de luz constante con un período cercano a las 24.37 h. Todos los animales (GUCY1* y normales) se sincronizaron a los ciclos de luz-oscuridad de luz azul. Los pollos GUCY1* sincronizan sus ritmos de ingesta aún a intensidades tan bajas como 6 lux pero no tan eficientemente como los animales normales.

Conclusiones: La retina interna es capaz de percibir cantidades pequeñas de luz y de enviar esta información al cerebro para regular la sincronización del ritmo de ingesta. En ausencia de fotopercepción extrarretinal, los fotorreceptores clásicos (conos y bastones) parecen mediar el efecto de la luz constante sobre la arritmicidad observada en pollos.

Subsidios: Fundación Antorchas, FONCyT, CONICET, SeCyT-UNC

Uso de un nuevo antiinflamatorio en cirugía de cataratas en perros

Sande P, Rosenstein R, Saenz D

Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA, CEFyBO, CONICET. p_sande@yahoo.com

Objetivos: La catarata es una de las principales causas de ceguera en humanos y animales. Si bien el tratamiento consiste en la extracción quirúrgica de la catarata, el éxito terapéutico depende en gran parte de la inflamación posquirúrgica. Los corticoides o AINEs de uso son antiinflamatorios efectivos pero presentan considerables efectos colaterales. En trabajos previos demostramos que la melatonina (Mel) es un potente antiinflamatorio en un modelo de uveítis experimental en el hamster dorado. El objetivo de este trabajo fue

analizar el uso de la Mel como antiinflamatorio en la cirugía de cataratas en perros.

Métodos: Previo consentimiento de los dueños, los perros se dividieron en cuatro grupos experimentales que recibieron distintos tratamientos (a partir de 3 días antes de la cirugía): A: no diabéticos tratados con dexametasona (1 gota c/6 h), B: no diabéticos tratados con Mel (3 mg/12 h), C: diabéticos con carprofeno (1 mg/kg c/12 h) y D: diabéticos con Mel (3 mg/12 h). La cirugía se realizó por facoemulsificación. A los 2, 7 y 20 días pos-cirugía se evaluó el *score* clínico (blefarospasmo, Tyndall, miosis, congestión de los vasos episclerales, alteraciones de la córnea y presión intraocular) y a los 120 días se evaluaron las secuelas (edema de córnea, sinequias y opacificación de la cápsula posterior del cristalino). El análisis estadístico se realizó mediante los tests de Mann-Whitney y Tukey.

Resultados: Entre los animales no diabéticos, el tratamiento con Mel no difirió del tratamiento con dexametasona a los 2 y 7 días poscirugía, en tanto que a los 20 días la inflamación fue menor en el grupo tratado con Mel ($p < 0.05$). En el grupo de animales diabéticos, la inflamación posquirúrgica fue menor en el grupo tratado con Mel que en el tratado con carprofeno en todos los intervalos examinados ($p < 0.01$). El porcentaje de secuelas fue: A, 33%; B, 11%; C, 44% y D, 11%. La PIO no difirió entre los grupos estudiados.

Conclusiones: Estos resultados avalan el uso de Mel como tratamiento antiinflamatorio para la cirugía de cataratas en perros.

Tiempo de ruptura de la película lagrimal (tbut) como biomarcador de contaminación ambiental

Berra M^{1,2}, Hansen L¹, Novaes P³, Márquez I⁴, Davidowski L⁵, Saldiva PH⁶, Berra A^{1,3}

¹Laboratorio de Investigación Oculares, Universidad de Buenos Aires; ²Hospital Lagleyze; ³Laboratório de Investigaçao em Oftalmologia (LIM33), Universidad de São Paulo; ⁴Biofundus; ⁵Grupo de Vigilancia Ambiental, Comisión Nacional de Energía Atómica; ⁶Laboratorio de Poluição Atmosférica Experimental (LIM05), Universidade de São Paulo. ocular@fmed.uba.ar

Objetivos: Estimar si el tBUT puede ser utilizado como biomarcador de contaminación ambiental.

Métodos: Se estudiaron 47 voluntarios en Argentina. G1: área metropolitana de Buenos Aires (MABA)

(n=12), G2: Ushuaia y Río Grande (n=24) y G3: habitantes permanentes del Parque Nacional Los Glaciares (n=11). Cada voluntario recibió por 7 días un monitor para determinar la exposición individual a dióxido de nitrógeno (NO₂). Posteriormente los sujetos se sometieron a la prueba de Schirmer I, biomicroscopía, tinción vital con fluoresceína y rosa de Bengala y tiempo de ruptura de la película lagrimal (tBUT) medidas y citología de impresión conjuntival. El análisis estadístico se realizó mediante un modelo lineal de Kruskal-Wallis.

Resultados: los niveles de exposición de NO₂ fueron de 38,4±17,2 µg/m³, 21,6±13,5 µg/m³ y 4,9±3,8 µg/m³ para G1, G2 y G3, respectivamente, con un p <0,001 entre grupos. El tBUT fue de 7,0±1,9 segundos, 10,7±4,0 segundos y 15,9±4,2 segundos para el G1, G2 y G3, respectivamente, con un p=0,001 entre grupos. Un claro efecto dosis-respuesta se detectó entre los niveles de NO₂ y tBUT, con una regresión estadísticamente significativa (p <0,001) y B-valor estimado en -0,490. No hubo correlaciones significativas entre los niveles de NO₂ y de los otros test oculares efectuados.

Conclusiones: Este estudio muestra una clara correlación negativa entre la contaminación atmosférica con el tBUT y la citología de impresión. La utilización del tBUT y la citología de impresión podrían ser utilizados como bioindicadores (simples, incruentos y económicos) de contaminación atmosférica sobre la salud.

Subsidios: UBACyT 2008-2010 ME403 y PICT 2007 (002252)

Prevalencia de automedicación en pacientes ambulatorios en clínicas privadas de oftalmología

Méndez Nicolía GA¹, Márquez GE¹, Sánchez VML¹, Zelaya N¹, Juárez CP¹, Gramajo AL¹, Torres VE², Luna JD¹

¹Centro Privado de Ojos Romagosa-Fundación VER, Córdoba, Argentina; ²CEA (CONICET-UNC) y Facultad de Ciencias Económicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. mendeznicolia@hotmail.com.

Objetivos: Estimar la prevalencia de automedicación (utilización de drogas no prescritas por un profesional especialista) en oftalmología en pacientes que asisten por primera vez a la consulta oftalmológica privada en la ciudad de Córdoba.

Métodos: Se realizó una encuesta a doscientos cuarenta pacientes consecutivos que asistieron por primera vez a la consulta oftalmológica en una clínica privada desde agosto hasta octubre de 2009. Para la recolección de los datos se diseñó una encuesta basada en un cuestionario confeccionado por dos de los autores (RTVE y JDL). Los resultados fueron sujetos a análisis estadístico.

Resultados: De los 240 pacientes encuestados 134 (55.8%) fueron mujeres y 106 (44.2%) hombres. La edad promedio fue de 49.6 años (18-88). De la totalidad de los pacientes, 71 (29.58%) refirieron haberse automedicado durante el último año. Las combinaciones de vasoconstrictores con AINEs (antiinflamatorios-no esteroideos) y los corticoides combinados con ATBs (antibióticos) fueron los medicamentos oftalmológicos más utilizados en la automedicación (26.67% y 10.67%, respectivamente). El comportamiento en la automedicación estuvo significativamente afectado por los niveles de instrucción, evidenciándose un mayor uso de drogas no prescritas a mayor nivel de educación (estudios universitarios > secundario completo > primario completo > primario incompleto/analfabetos). El grupo según género que más usó medicación auto-prescrita correspondió al masculino (37.73%) y el grupo etario que más se automedicó estuvo comprendido entre los 18 y 30 años. Las razones más prevalentes para la elección de los fármacos en la automedicación fueron consecuencia de sugerencias de farmacéuticos (25.4%) seguida por el consejo de un familiar/amigo (22.5%) y por la elección personal sin consejo alguno pero desconociendo los componentes de los mismos (21.1%).

Conclusiones: La automedicación es una práctica común en la población general de nuestra ciudad. Las consecuencias patológicas del uso inapropiado de colirios son ignoradas por la población. El cumplimiento de la legislación a este respecto y las campañas informativas sobre el daño visual por la automedicación oftalmológicas serían necesarias para evitar la práctica de la misma.

Bioseguridad del gel catiónico sc230 para uso extra e intraocular ocular in vivo en conejos

García LG¹, Pusterla JP¹, Gramajo AL¹, Juárez CP¹, Alasino R², Beltramo DM², Luna JD¹

¹Centro Privado de Ojos Romagosa-Fundación VER, Córdoba, Argentina. ²Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR), Ministerio de Ciencia y Tecnología de Córdoba,

Pabellón CEPROCOR, Santa María de Punilla,
Córdoba. lu_gar@hotmail.com

Objetivos: Evaluar biocompatibilidad, seguridad y eficacia ocular a corto plazo del polímero viscoelástico catiónico derivado de celulosa denominado Celquat SC230 en su uso tópico, subconjuntival (SC) e intracameral (IC) *in-vivo*.

Métodos: Se utilizaron 12 conejos de raza Nueva Zelanda divididos en tres grupos. El grupo A (n=3) fue tratado con SC230 al 1% en forma tópica. El grupo B (n=3) fue tratado con SC230 SC y el grupo C (n=6) fue tratado con SC230 IC. De este último grupo, tres conejos fueron inyectados con SC230 naive y 3 con SC230 marcado con fluoresceína para valorar su eliminación. Para el grupo A se utilizó anestesia local y los grupos B y C fueron tratados con anestesia general. En los grupos A y B el seguimiento se realizó con biomicroscopía a las 12 horas y cada 24 horas hasta el término de 7 días. El grupo C fue controlado además mediante medición de presión intraocular (PIO), fundoscopia y electroretinografía (ERG). Todos los conejos fueron tratados con SC230 al 1% sólo en ojo derecho (OD), utilizándose el ojo izquierdo (OS) como control. En el grupo A la sustancia utilizada como control fueron lágrimas artificiales de uso en la práctica diaria y en los grupos B y C una sustancia viscoelástica (VE) de uso comercial.

Resultados: En ninguno de los conejos tratados del grupo A se encontraron signos de congestión local ni de toxicidad conjuntival o corneal. En los animales inyectados en forma SC se observó una leve congestión en la zona de la ampolla que desapareció a las 24 horas. Esa misma congestión pudo apreciarse en el grupo control. El volumen de las ampollas en los conejos tratados con SC230 se mantuvo en el espacio SC por un promedio de 7 días \pm 1. Se evidenció inflamación inmediata en todos los ojos que recibieron aplicaciones IC, ya sea de SC230 como de VE. Dicho efecto disminuyó en forma importante a las 24 horas en ambos ojos. En OD se constató leve aumento de la PIO comparado con OS, dicha elevación no se mantuvo más allá de las 24 horas. No se observaron restos de fluoresceína en OD al finalizar dicho período. A las 24 hs., el ERG reveló disminución de la amplitud con latencia conservada de todas las ondas tanto en los ojos inyectados con SC230 como en el grupo control.

Conclusiones: SC230 mostró una compatibilidad similar a los controles utilizados tanto en forma tópica, como SC o IC. Es de notar que en cámara anterior produce alteraciones temporarias de aumento de PIO similares al VE.

Proliferación celular en el desprendimiento experimental de retina

Olivera M, Luzzani G, Cubilla MA, Castañeda M, Suburo AM

Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Austral, Pilar, Buenos Aires. amsuburo@gmail.com

Objetivos: El desprendimiento de retina (DR) es un trastorno serio pero su tratamiento quirúrgico es generalmente exitoso. En 5-10% de los pacientes se forman membranas epi y subretinales cuya contracción altera aún más la arquitectura retinal. Como existen controversias sobre el origen de las células que forman las membranas, estudiamos la aparición de MCM2, un marcador de proliferación celular después de DR experimental. MCM2 es una proteína de mantenimiento de los minicromosomas que integra el complejo de pre-duplicación durante la fase G1 del ciclo celular. Sólo se encuentra en las células en G1 con capacidad de dividirse.

Métodos: Utilizamos ratones Balb-c de 4 semanas que recibieron anestesia general y tópica. El DR se produjo por inyección subretinal de ácido hialurónico en el cuadrante nasal. Se examinó el fondo de ojo 2 y 5 días después. Luego los ratones fueron anestesiados, fijados por perfusión y enucleados. Se detectó MCM2 mediante procedimiento inmunoenzimático en cortes meridionales del ojo.

Resultados: En la retina normal no se encontraron núcleos MCM2⁺, aunque unos pocos se encontraban en el cuerpo ciliar vecino a la retina periférica. Tanto a los 2 como a los 5 días pos-DR se observaron abundantes núcleos MCM2⁺ en la zona ciliar y en el margen ciliar de la retina desprendida. También apareció MCM2 en células de la zona desprendida de la retina, presumiblemente de origen glial, en macrófagos del espacio subretinal y en el epitelio pigmentario (EP). Las membranas subretinales presentaron una altísima densidad de núcleos MCM2⁺. No detectamos núcleos MCM2⁺ en la retina y EP del cuadrante temporal no desprendido. Sin embargo, la zona temporal del cuerpo ciliar tenía mayor cantidad de núcleos MCM2⁺ que los controles.

Conclusiones: Después del DR detectamos células en G1 (MCM2⁺) en regiones cuya contribución a la formación de membranas perirretinales es conocida: EP, células gliales y macrófagos subretinales. La presencia de núcleos MCM2⁺ en la zona ciliar indica la activación de células neuroprogenitoras que podrían contribuir a la formación de las membranas.

Subsidio: Florencio Fiorini para Investigación en Ciencias Biomédicas 2009.

Efecto protector del lipopolisacárido bacteriano sobre el daño retinal inducido por luz de alta intensidad

Lanzani MF, Franco P, Fernández D, López-Costa JJ, Rosenstein RE

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

Objetivos: En trabajos previos hemos demostrado que la administración intravítrea de lipopolisacárido bacteriano (LPS) induce protección frente a un daño isquémico retinal. Múltiples pruebas experimentales demuestran que la exposición a luz de alta intensidad provoca un daño retinal significativo. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del LPS sobre el daño retinal inducido por luz intensa.

Métodos: Ratas *Wistar* macho adultas fueron inyectadas en forma intravítrea con 3 µg de LPS en un ojo y vehículo en el ojo contralateral. Un día después de la inyección, las ratas fueron colocadas durante 24 horas en una caja de acrílico blanca de 60 cm x 60 cm x 60 cm con 12 lámparas halógenas (12 V 50 W cada una) con un nivel de iluminación de 12.000 lux. Los animales se mantuvieron en un cuarto con aire acondicionado, con temperatura controlada. A los 7 o 14 días después de la exposición a luz, las ratas fueron sometidas a electroretinografía y análisis histológico.

Resultados: La exposición a luz constante durante 24 horas indujo una disminución significativa en la amplitud de las ondas a y b del ERG escotópico. Esta disminución fue prevenida en los ojos inyectados con LPS tanto a los 7 como a los 14 días después de la exposición a luz. Por otra parte, en los ojos expuestos a luz constante se observaron alteraciones significativas en la capa nuclear externa, la capa plexiforme externa y el epitelio pigmentario. La inyección de LPS redujo la degeneración de los fotorreceptores y protegió la capa plexiforme externa y el epitelio pigmentario del daño inducido por luz.

Conclusiones: Por primera vez estos resultados indican que el LPS provee protección funcional e histológica frente a los efectos deletéreos inducidos por luz de alta intensidad.

Análisis discriminativo de los parámetros bioquímicos en pacientes con degeneración macular relacionada con la edad

Espejo JV¹, Gramajo AL¹, Collino CG^{2,3}, Forzineti G⁴, Baroni MV², Ferrer D³, Juárez CP¹, Sánchez MC^{2,3}, Luna JD¹

¹Centro Privado de Ojos Romagosa-Fundación VER, Córdoba, Argentina; ²Bioquímica Clínica, CIBICI (CONICET), Córdoba; ³CEQUIMAP, FCQ, UNC, Córdoba; ⁴Laboratorio Hospital Privado, Córdoba. jimenaespejo66@hotmail.com

Objetivos: Los mecanismos moleculares y bioquímicos responsables de la patogénesis de la degeneración macular relacionada con la edad (ARMMD) todavía no fueron establecidos. Por consiguiente, en el presente estudio se aplicó análisis estadístico discriminativo que asociara parámetros bioquímicos con características fundoscópicas de los pacientes con ARMMD.

Métodos: Luego de un examen oftalmológico completo se obtuvo sangre periférica de pacientes con ARMMD (n=30) e individuos del mismo grupo etario sin ARMMD (n=15). Se realizaron análisis cuantitativos para más de 22 parámetros bioquímicos diferentes por tests de laboratorios clínicos convencionales y citometría de flujo. LRP1 fue medido de monocitos de sangre periférica por citometría de flujo usando un anticuerpo monoclonal conjugado para RD1 contra la cadena alfa de LRP humano. Al menos 2000 monocitos se adquirieron en cada muestra. Todos los parámetros bioquímicos, citométricos y clínicos se analizaron usando análisis discriminativo lineal y Kruskal Wallis.

Resultados: El análisis discriminativo seleccionó 7 parámetros bioquímicos como los más importantes para diferenciar pacientes con ARMMD respecto del grupo control. Los parámetros encontrados fueron: LRP1, HDL-colesterol, amplitud de distribución de los glóbulos rojos (RDW), hematocrito, volumen corpuscular medio (MCV), linfocitos, plaquetas y colesterol. Dichos parámetros fueron estadísticamente diferentes entre ambos grupos (p≤0.05). Estos siete parámetros nos permiten diferenciar estos dos grupos con una certeza del 95%.

Conclusiones: Estos resultados indican que estos 7 parámetros bioquímicos son marcadores clave que discriminan altamente pacientes con ARMMD de cualquier otra patología retinal y podrían ser vías comunes involucradas en la patogénesis de esta patología macular.

Estudio de la metodología multifractal como clasificador de máculas normales y patológicas en retinografías de pacientes diabéticos

Salvatelli A¹, Bizai G¹, Hernández V², Durango N², Caropresi JL¹, Drozdowicz B^{1,3}, Delrieux C⁴

¹Grupo de Inteligencia Artificial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER); ²Escuela de Ingeniería de Antioquia, Universidad CES (Colombia); ³Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad Autónoma de Entre Ríos (UADER); ⁴DIEC, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. asalvatelli@bioingenieria.edu.ar

Objetivos: La hipótesis propuesta se basa en el hecho de que un retinograma normal presenta una forma espectral multifractal y es de esperar cambios en la misma a medida que se observan patologías. Esta fractalidad se debe a la autosimilitud de características propias que presentan tanto los tejidos como las patologías. El objetivo es estudiar el comportamiento del espectro multifractal en imágenes de fondo ocular, analizando su potencial uso en la clasificación de máculas “normales” y “anormales”.

Métodos: Se utilizaron imágenes de la base pública DRIVE, de la cual se seleccionaron aleatoriamente 50 imágenes recortadas con resolución 201x201, 8 bit por color, para observar sólo la zona de la mácula en el canal verde. Estas imágenes fueron clasificadas por un experto en 22 sin anomalía y 28 patológicas con distinto grado de severidad. Se implementó y aplicó a las imágenes sin preproceso previo un algoritmo que obtiene el espectro multifractal de capacidades locales “max” (exponente de Hölder). La propuesta más importante de este trabajo es evaluar la pendiente ajustada por mínimos cuadrados ponderados entre los valores máximo y mínimo de estos espectros a los fines de medir la pendiente espectral (PE). Para una mayor comprensión de este parámetro se expresó en valores angulares referidos al eje de ordenadas del espectro.

Resultados: Para el caso de las máculas normales se obtuvo un valor de pendiente promedio de $-10,72^\circ \pm 12,64^\circ$, mientras que las máculas patológicas obtuvieron un valor de $-31,5^\circ \pm 13,48^\circ$. Aplicando curvas ROC se obtuvo: área bajo la curva $0,87311 \pm 0,05298$, corte $-0,77$ grados. Sensibilidad: 83.3%, intervalo de confianza al 95% : 68.4% - 98.2%, proporción de falsos positivos: 16.7%. Especificidad: 95.5%, intervalo de confianza al 95% : 86.8% - 100.0%, proporción de falsos negativos: 4.5%.

Conclusiones: La técnica multifractal exhibe muy buena sensibilidad a cambios entre imágenes nor-

males y anormales de zona macular en retinogramas con imágenes sin preprocesar. Falsos negativos: estas son imágenes que presentan muy pocas hemorragias y/o edemas maculares. Estas imágenes no representan grandes cambios en los conjuntos locales autosimilares, complicando su discriminación. Sin embargo, las imágenes aún pocos exudados, fueron bien clasificadas. Falsos positivos: se observó que dichas imágenes presentaron un mayor grado de ruido JPG frente a las demás, confundiendo al análisis multifractal.

Expresión de la proteína-1 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad (Irp-1) en sangre periférica en pacientes con el edema macular diabético

Gramajo AL¹, Sánchez MC², Méndez Nicolía GA, Lorenc VE², Collino CJG^{2,3}, Baroni MV², Forzinetti G⁴, Ferrer D³, García LG¹, Luna JD¹

¹Centro Privado de Ojos Romagosa-Fundación VER, Córdoba, Argentina; ²CIBICI-Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba; ³CEQUI-MAP, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba; ⁴Laboratorio Hospital Privado, Córdoba. laura_gramajo@yahoo.com

Objetivos: Recientemente demostramos que LRP1 se encuentra altamente expresado en la retina bajo condiciones de isquemia así como se demostró una disminución de la expresión en macrófagos tratados con insulina, sugiriendo que LRP1 juega un rol clave en la patogénesis de la diabetes. El objetivo de este trabajo es estudiar la expresión de superficie de LRP1 en monocitos de sangre periférica en asociación con otros parámetros bioquímicos para discriminar pacientes con edema macular clínicamente significativo (EMCS) de pacientes con *Diabetes mellitus* (DM) sin EMCS.

Métodos: Se obtuvieron muestras de sangre periférica de pacientes con EMCS (n=28), pacientes diabéticos sin EMCS (n=21) y pacientes sanos (n=16). Se realizaron análisis cuantitativos de más de 22 parámetros bioquímicos distintos por tests de laboratorios clínicos convencionales. LRP1 fue medido de monocitos de sangre periférica por citometría de flujo usando un anticuerpo monoclonal conjugado para RD1 contra la cadena alfa de LRP humano. Al menos 2000 monocitos se adquirieron en cada muestra. Todos los parámetros bioquímicos se analizaron usando análisis discriminativo lineal y Kruskal Wallis.

Resultados: El análisis discriminativo seleccionó

12 parámetros bioquímicos (de 21 analizados) como los más importantes para discriminación. Los parámetros seleccionados estadísticamente incluyeron LRP1, CD4, CD3, TLCD4+CD8+, hematocrito, amplitud de distribución de los glóbulos rojos, linfocitos, plaquetas, HDL y LDL colesterol, colesterol y HbA1c. Estos 12 parámetros permitieron diferenciar pacientes con EMCS de pacientes con DM con una certeza del 96,7%. El valor promedio de monocitos que expresaban LRP1 fue estadísticamente diferente entre ambos grupos de pacientes ($p \leq 0.05$).

Conclusiones: LRP1 fue expresado diferencialmente en monocitos de sangre periférica de pacientes con EMCS respecto de pacientes con DM sin EMCS. Además, LRP1 junto con otros parámetros bioquímicos permitió discriminar estadísticamente estos dos grupos.

Retinopatía diabética proliferativa en un modelo de ratas de diabetes tipo 2 alimentadas con una dieta alta en grasa

Mancini JE¹, Basabe JC², Croxatto JO³, Gallo JE¹
¹Nanomedicine & Vision Group, Facultad de Ciencias Biomédicas, Hospital Universitario Austral, Universidad Austral, Pilar; ²Centro de Investigaciones Endocrinológicas, Buenos Aires, Argentina; ³Departamento Patología Ocular, Fundación Oftalmológica Argentina "Jorge Malbran", Buenos Aires. mancinioftalmologia@gmail.com

Objetivos: Evaluar los cambios tardíos en la retina de animales diabéticos alimentados con dieta alta en grasa.

Metodos: Diez ratas hembra de la raza Wistar recibieron al segundo día de vida una dosis de 45 mg/kg de streptozotocina. A partir de la octava semana de vida y hasta la semana 115 de vida fueron alimentadas con una dieta alta en grasa. Estos animales constituyeron el grupo diabético mientras que animales de la misma edad, sexo y raza con alimentación convencional y sin ningún tipo de tratamiento constituyeron el grupo control. El estudio de la retina se realizó con técnicas de inmunohistoquímica en cortes transversales evaluando la expresión de la proteína gliofibrilar ácida de la retina (GFAP), el receptor de los productos finales de la glicosilación (RAGE). Además se realizó el examen histológico con tinción de hematoxilina y eosina, y con PAS.

Resultados: cambios histológicos retinales compatibles con retinopatía diabética proliferativa fueron

sólo encontrados en animales diabéticos, acompañándose también de neovascularización corneal y tal vez rubeosis iridis. La inmunomarcación de GFAP y de RAGE fue similar en los grupos comparados.

Conclusiones: Nuestro modelo de diabetes tipo 2 reproduce los cambios tardíos de la retinopatía diabética. El modelo podría ser útil para estudiar la progresión de la retinopatía desde el grado leve al severo y evaluar el impacto fisiopatológico de la dieta en el desarrollo de la enfermedad.

Teoría retinex aplicada como técnica de preprocesamiento de imágenes de retinografía color

Gustavo Bizai¹, Natalia Durango², Bartolomé Drozdowicz^{1,3}

¹Grupo de Inteligencia Artificial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Oro Verde (Argentina); ²Escuela de Ingeniería de Antioquia-Universidad CES, Medellín (Colombia); ³Facultad de Ciencias y Tecnología Universidad Autónoma de Entre Ríos (UADER). gbizai@bioingenieria.edu.ar

Objetivos: Retinex (RTX) ha demostrado ser una potente herramienta para recuperar imágenes con iluminación deficiente, conservando las características de color. En este trabajo se propone aplicar diferentes algoritmos RTX a retinografías color para comparar sus *performances* y encontrar el conjunto de parámetros que permita el mejor realce de contraste.

Métodos: Se implementaron algoritmos según dos enfoques diferentes: iterativos (basados en Frankle y McCann) y de filtrado multiescala (MSRCR). Los iterativos se aplicaron en modelo de color RGB (F&Mrgb), modelo de color HSV (F&Mhsv) y modelo de color RGB con restauración de color (F&MrgbCR) y tienen como único parámetro el número de iteraciones (NI). En cambio, el MSRCR posee muchos más: cantidad y constantes de escala, pesos y parámetros de la función de restauración de color (FRC). Se ensayaron diferentes combinaciones de parámetros y se obtuvieron curvas de NI contra el valor de la media e histogramas.

Resultados: Para evaluar el NI óptimo se eligieron 8 imágenes, la mitad de buena iluminación y la otra con iluminación deficiente. A cada una se aplicaron los algoritmos iterativos con diferentes NI y se calculó la media. Con NI=2 la media toma su máximo valor y de allí en más decae. Para MSRCR se verificó que las escalas 15, 80 y 250 generan una buena compensación en-

tre compresión de rango dinámico (escalas pequeñas) y rendición tonal (escalas grandes). Se proporcionó igual peso (1/3) a la combinación de las escalas. Para la FRC la bibliografía sugiere utilizar $\alpha=46$ y $\beta=125$, valores determinados empíricamente. Estos fueron verificados mediante combinaciones de diferentes rangos de α (20 - 80) y β (105 - 140).

Conclusiones: Todos los algoritmos RTX implementados mejoraron la iluminación de retinografías color subexpuestas, permitiendo la visualización de estructuras originalmente ocultas. En general, los al-

goritmos iterativos son mucho más rápidos que los de filtrado. En contraposición, estos últimos generan imágenes de colores más vívidos, que resultan en una mejor percepción de contraste. Debe considerarse el destino de la imagen procesada: si se utiliza directamente para su análisis por el experto es necesario preservar las características de color y MSRCR puede brindar el mejor resultado. Si se somete la imagen a otros procesos computacionales donde el color no interviene, los iterativos son más convenientes por su menor costo de cálculo.