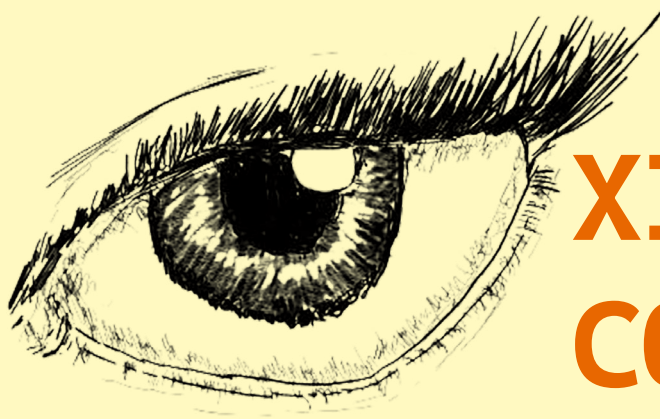


Oftalmología clínica y experimental

Publicación científica del Consejo Argentino de Oftalmología • Volumen 17 • Suplemento 2 (2024) • ISSN 2718-7446



**XIV
CONGRESO
ANUAL
2023**

OCE

17.S2

CAO

Oftalmología clínica y experimental

La revista **Oftalmología clínica y experimental** es la publicación periódica científica del Consejo Argentino de Oftalmología. Tiene una frecuencia trimestral (cuatro números por año) y su objetivo es brindar acceso a material científico en español, en portugués y en inglés. Contiene trabajos originales de investigación clínico-quirúrgica y básica, comunicaciones breves, informe de casos y series, revisiones sistemáticas, apuntes en medicina basada en la evidencia, bioestadística y prevención de la ceguera, comentarios de resúmenes destacados para la práctica oftalmológica presentados en congresos y reuniones de la especialidad y referencias a publicaciones de otras revistas. Se estimula el envío de correspondencia para la sección de cartas de lectores abierta a todos los profesionales que deseen expresar sus comentarios sobre los

trabajos publicados y observaciones preliminares importantes para la práctica oftalmológica. Los trabajos recibidos son evaluados por profesionales (árbitros o revisores) con conocimiento del tema tratado de acuerdo con normas internacionales. La revista cuenta con un sistema de autoevaluación para contabilizar créditos de educación permanente. Los artículos podrán ser localizados e identificados a través de los buscadores usuales de la web abierta y bases de datos regionales.

El Comité Editorial de la revista adhiere a los principios establecidos por el Internacional Committee of Medical Journal Editors y se ajusta a los principios de la Declaración de Helsinki y a los principios de cuidados de animales para experimentación de la Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO).

Equipo

DIRECTOR

Dr. Rodrigo M. Torres (*Paraná*)

DIRECTORES ASOCIADOS

Dr. Franco Benvenuto (*Buenos Aires*)

Dr. Alejandra Carrasco (*Mendoza*)

Dr. Javier Casiraghi (*Buenos Aires*)

Dr. Jeremías Galletti (*Buenos Aires*)

Dr. Emilio Ladeveze (*Rosario*)

Dr. Andrés Lasave (*Mar del Plata*)

Dr. Tomás Ortiz Basso (*La Pampa*)

Dr. Melina Mateos (*Bahía Blanca*)

Dr. Fernando Pellegrino (*Buenos Aires*)

Dr. María Cecilia Sánchez (*Córdoba*)

Dr. Ariel Schlaen (*Buenos Aires*)

DIRECTORES ANTERIORES

Dr. Juan Oscar Croxatto

2007-2011

Dr. Javier Casiraghi

2012-2019

COMITÉ EDITORIAL POR SECCIONES

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología (AIVO)

Dr. María Cecilia Sánchez

Asociación Argentina de Glaucoma (ASAG)

Dra. Celina Logioco

Centro Argentino de Estrabismo (CAE)

Dr. Esteban Travellotti

Grupo Argentino de Uveítis (GAU)

Dr. Emilio Dodds

Sociedad Argentina de Córneas, Refractiva y Catarata (SACRYC)

Dr. Gerardo Valvecchia

Sociedad Argentina de Plástica Ocular (SAPO)

Dr. Guillermo Fridrich

Sociedad Argentina de Retina y Vítreo (SARyV)

Dr. Arturo Alezzandrini

Sociedad Argentina de Superficie Ocular (SASO)

Dr. Martín Berra

COMITÉ EDITORIAL NACIONAL

Dr. Emiliano Becerra

Dr. Alejandro Berra

Dr. Roberto Borrone

Dr. Cristóbal Couto

Dr. Pablo Chiaradía

Dr. Leonardo D'Alessandro

Dr. Juan E. Gallo

Dr. Pablo Larrea

Dr. Arturo Maldonado Bas

Dr. Alberto Naveyra

Dr. Javier Odoriz Polo

Dr. David Pelayes

Dr. Gustavo Piantoni

Dra. Ruth Rosenstein

Dr. Fernando J. Scattini

Dra. Felisa Shokida

Dr. Julio Urrets Zavalía

Dr. Alejo Vercesi

Dr. Ricardo Wainsztein

Dr. Daniel Weil

COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

Dr. J. Fernando Arévalo, *Estados Unidos*

Dr. Paulo Augusto de Arruda Mello, *Brasil*

Dr. Fernando Gómez Goyeneche, *Colombia*

Dr. Van C. Lansingh, *Estados Unidos*

Dr. Jesús Merayo Lloves, *España*

Dra. Elisabetta Miserocchi, *Italia*

Dra. Cristina Muccioli, *Brasil*

Dra. Claudia Murillo Correa, *México*

Dr. Miguel Pedroza Seres, *México*

Dra. Marlene Vogel G., *Chile*

Dr. Tomás Blanco, *Estados Unidos*

Ing. Acner Camino, *Estados Unidos*

Dr. Roberto Gallego Pinazo, *España*

Dr. Jaime Soria, *Ecuador*

Dr. Alfredo Adán, *España*

Dr. Lihteh Wu, *Costa Rica*

CONSEJEROS EMÉRITOS

Dra. Myriam Berman

Dr. Alberto Ciancia †

Dr. Enrique S. Malbran

Dr. Hugo Dionisio Nano †

Dr. Israel Jaime Yankelevich ☆

Dr. Jorge Zárate

EQUIPO EDITORIAL

Lic. Raúl Escandar

Sra. Mariana Schiffer

Prof. Sebastián Centurión

Lic. Jorge Martins

Lic. Inés Ramírez Bosco



COMITÉ EJECUTIVO 2024-2025

Presidente

Dra. Virginia Zanutigh

Vicepresidente

Dr. Juan Rivero

Secretario

Dr. Fernando Scattini

Tesorero

Dr. Nicolás Garcés

Prosecretaria

Dr. Daniel Sabella

Protesorera

Dra. Adriana Tytiun

Primer vocal

Dr. Santiago Prieto Díaz

Segundo vocal

Dra. Celeste Mansilla

Tercer vocal

Dra. Nadia Flores

Cuarto vocal

Dra. Cecilia Ruades

DIRECTOR EJECUTIVO

2024-2025

Dr. Roberto Ebner

Domicilio editorial:

Consejo Argentino de Oftalmología,

Tte. Gral. J. D. Perón 1479, PB,

1037AAO Buenos Aires, Argentina.

Teléfono: (54-11) 4374-5400 líneas rotativas.

Correspondencia al editor:

secretaria@oftalmologos.org.ar

Número de propiedad intelectual

69974236.

www.revistaoce.com

Propiedad intelectual: ninguna parte de esta revista podrá ser reproducida por ningún medio, incluso electrónico, ni traducida a otros idiomas sin autorización escrita de sus editores. Los editores y miembros del comité asesor no tienen interés comercial, ni patrocinan o acreditan ninguno de los productos comerciales o procedimientos de diagnóstico o tratamiento mencionados en los artículos publicados.

ISSN 1851-2658 (impreso, 2007-2021)

ISSNe 2718-7446 (en línea)

Resúmenes de investigaciones presentadas en el XIV Congreso Nacional de la Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología (AIVO)

Llevado a cabo del 1º al 2 de diciembre de 2023 en Córdoba, Argentina

Abstracts of research papers presented at the 14th National Meeting of the "Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología" (AIVO) [Association of Research in Vision and Ophthalmology]

Held in Córdoba, Argentina, December 1st to 2nd, 2023

Oftalmol Clin Exp (ISSN 1851-2658)
2024; 17(S2): S1-S36.

Comité Organizador

Dra. Cecilia Sánchez
Dr. Luis Politi
Dra. Nora Rotstein
Dra. Ruth Rosenstein
Dr. Rodrigo Torres

COMUNICACIONES ORALES I

Enfermedad ocular: epidemiología y diseño
tecnológico para su estudio

1

Análisis genético a nivel nacional de más de 600 familias con enfermedades oculares hereditarias en Argentina

María B. Yadarola^{1*}, José D. Luna Pinto¹, Patricio G. Schlottmann², Natalia Labat¹, Silvina Bainttein³, Evangelina Espósito⁴⁻⁵, Agustina Ibáñez⁴⁻⁵, Evangelina I. Bárbaro⁶, Alejandro Álvarez Mendiara⁷, Carolina P. Picotti⁸, Andrea Chirino Misi-sian⁸, Luciana Andreussi⁹, Julieta Gras¹⁰, Luciana Capalbo¹¹, Mauro Visotto¹², José E. Dipierri¹³, Emilio Alcoba¹⁴, Laura Fernández Gabrielli¹⁵, Silvia Ávila¹⁶, María E. Aucar¹⁷, Daniel M. Martín¹⁷, Gerardo J. Ormaechea¹⁸, María E. Inga¹⁹, Aníbal A. Francone², Martín Charles², Tamara Zompa², Pablo J. Pérez²⁰, Vanesa Lotersztejn²¹, Pedro J. Nuova²², Ivana B. Canonero²³, Michel Michaelides²⁴⁻²⁵, Gavin Arno²⁴⁻²⁵, Malena Daich Varela²⁴⁻²⁵

¹ Centro Privado de Ojos Romagosa, Córdoba, Argentina.

² Charles Centro Oftalmológico, Buenos Aires, Argentina.

³ Instituto Oftalmológico de Córdoba, Córdoba, Argentina.

⁴ Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba, Argentina.

⁵ Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.

⁶ Hospital Provincial Neuquén, Neuquén, Argentina.

⁷ Instituto Oftalmológico Cortina, Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

⁸ Centro Médico Lisandro de la Torre, Villa María, Córdoba, Argentina.

⁹ Clínica de la Visión, San Juan, Argentina.

¹⁰ Centrovisión Mendoza, Mendoza, Argentina.

¹¹ Hospital M. J. Becker, La Punta, San Luis, Argentina.

¹² Instituto Oftalmológico Trelew, Trelew, Chubut, Argentina.

¹³ Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina.

¹⁴ Hospital Materno Infantil Dr. Héctor Quintana, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina.

¹⁵ Nuevo Hospital San Antonio de Padua, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

¹⁶ Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue, Cipolletti, Río Negro, Argentina.

¹⁷ Instituto de Ojos y Oídos, Resistencia, Chaco, Argentina.

¹⁸ Clínica de Ojos Córdoba, Córdoba, Argentina.

¹⁹ Organización Médica de Investigación, Buenos Aires, Argentina.

²⁰ Consulta privada, Santiago del Estero, Argentina.

²¹ Centro Nacional de Genética Médica, Buenos Aires, Argentina.

²² Ocularyb Oftalmoclínica, Yerba Buena, Tucumán, Argentina.

²³ Hospital Privado Universitario de Córdoba, Córdoba, Argentina.

²⁴ Moorfields Eye Hospital, London, United Kingdom.

²⁵ UCL Institute of Ophthalmology, University College London, London, United Kingdom.

* fundacionver@gmail.com

Objetivos: Realizar el primer análisis genético a gran escala de enfermedades oculares hereditarias (EIE) en Argentina y describir el perfil genético integral de una gran cohorte de pacientes.

Materiales y métodos: Se trata de un estudio retrospectivo que analiza las historias clínicas de 22 servicios de oftalmología y genética de 13 provincias argentinas. Se incluyeron pacientes con diagnóstico clínico de enfermedad genética oftálmica y antecedentes de pruebas genéticas. Se recogieron antecedentes médicos, oftalmológicos y familiares.

Resultados: Se incluyeron 773 pacientes de 637 familias, de los cuales el 98% tenía enfermedad retinal hereditaria. El fenotipo más común fue la retinitis pigmentosa (62%). Se detectaron variantes causales en 379 (59%) pacientes. USH2A, RPGR y ABCA4 fueron los genes asociados a enfermedades más comunes. USH2A fue el gen más frecuente que causó retinitis pig-

mentosa, distrofia retinal grave de aparición temprana RDH12, enfermedad de Stargardt ABCA4, distrofia de conos-bastones PROM1 y distrofia macular BEST1. Las variantes más frecuentes fueron RPGR c.1345C>T, p.(Arg449*) y USH2A c.15089C>A, p.(Ser5030*). El estudio reveló 159/448 (35%) variantes patogénicas/probablemente patogénicas no reportadas previamente y 9 posibles mutaciones fundadoras.

Conclusiones: Presentamos el panorama genético de la DEI en Argentina y la cohorte más grande de Sudamérica. Estos datos servirán como referencia para futuros estudios genéticos, ayudarán al diagnóstico, informarán el asesoramiento y ayudarán a abordar la necesidad en gran medida insatisfecha de realizar ensayos clínicos en la región.

Nationwide genetic analysis of more than 600 families with inherited eye diseases in Argentina

Objectives: To conduct the first large-scale genetic analysis of inherited eye diseases (IED) in Argentina and describe the comprehensive genetic profile of a large cohort of patients.

Materials and methods: This is a retrospective study analyzing medical records of 22 ophthalmology and genetics services throughout 13 Argentinian provinces. Patients with a clinical diagnosis of an ophthalmic genetic disease and a history of genetic testing were included. Medical, ophthalmological and family history was collected.

Results: 773 patients from 637 families were included, with 98% having inherited retinal disease. The most common phenotype was retinitis pigmentosa (62%). Causative variants were detected in 379 (59%) patients. USH2A, RPGR, and ABCA4 were the most common disease-associated genes. USH2A was the most frequent gene to cause retinitis pigmentosa, RDH12 early onset severe retinal dystrophy, ABCA4 Stargardt

disease, PROM1 cone-rod dystrophy, and BEST1 macular dystrophy. The most frequent variants were RPGR c.1345C>T, p.(Arg449*) and USH2A c.15089C>A, p.(Ser5030*). The study revealed 159/448 (35%) previously unreported pathogenic/likely pathogenic variants and 9 possible founder mutations.

Conclusions: We present the genetic landscape of IED in Argentina and the largest cohort in South America. This data will serve as a reference for future genetic studies, aid diagnosis, inform counselling, and assist in addressing the largely unmet need for clinical trials to be conducted in the region.

2

Simulador tridimensional mecánico de ojo para la valoración biofarmacéutica de sistemas portadores de fármacos

Juan Ignacio Sipowicz*, Juan Pablo Real, Daniel Andrés Real, Santiago Daniel Palma, Luis Ignacio Tártara

Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* juanignaciosipo@gmail.com

Objetivo: Este proyecto tiene por objetivo la creación de un simulador tridimensional mecánico de ojo mediante manufactura aditiva para evaluar la liberación de fármacos en la vía oftálmica. Buscamos poder evaluar la performance biofarmacéutica de sistemas portadores de fármacos (SPF) en un entorno más realista que supere las limitaciones de los modelos in-vitro tradicionales.

Metodología: La metodología incluye el uso de películas poliméricas con fármacos modelo (acetazolamida y triamcinolona), el diseño del modelo ocular con impresión 3D, y ensayos de liberación *in vitro* mediante simulador mecánico y modelos tradicionales. También se utilizarán córneas aisladas en ensayos *ex vivo* y se evaluará la farmacocinética intraocular en modelos animales.

Resultados: El diseño del simulador tridimensional mecánico de ojo está en pleno desarrollo, destacando la creación de prototipos para la córnea simulada como un hito de suma importancia en el proyecto. Este diseño, basado en el programa CAD, incluirá la córnea simulada, montada a un globo ocular con dimensiones anatómicas específicas y un párpado artificial impreso en 3D para imitar las condiciones oculares reales. La capacidad para incorporar córneas aisladas o membranas semipermeables sintéticas es un avance clave para futuros ensayos de permeación. A medida que avanzan estos desarrollos, se espera que el proyecto proporcione resultados más concretos en la evaluación de sistemas portadores de fármacos para la aplicación oftálmica.

Conclusión: Las capacidades de la impresión 3D pueden ser aplicadas en el desarrollo de equipos y modelos analíticos innovadores para evaluar SPF para vías no estándares, como la vía oftálmica.

Three-dimensional mechanical eye simulator for bio-pharmaceutical assessment of drug delivery systems

Objective: This project aims to create a three-dimensional mechanical eye simulator using additive manufacturing to assess drug release in the ocular route. The goal is to evaluate the bio-pharmaceutical performance of drug carrier systems (SPFs) in a more realistic environment, surpassing the limitations of traditional in-vitro models.

Methodology: The methodology involves the use of polymeric films with model drugs (acetazolamide and triamcinolone), the design of the eye model using 3D printing, and in vitro release assays using both mechanical simulators and traditional models. Isolated corneas will also be used in ex vivo assays, and intraocular pharmacokinetics will be evaluated in animal models

Results: The design of the three-dimensional mechanical eye simulator is actively underway, with a significant milestone being the creation of prototypes for the simulated cornea. This CAD-based design includes the simulated cornea mounted on an eyeball with specific anatomical dimensions and a 3D-printed artificial eyelid to mimic real ocular conditions. The ability to incorporate isolated corneas or synthetic semi-permeable membranes is a key advancement for future permeation assays. As these developments progress, the project is expected to yield more concrete results in assessing drug carrier systems for ocular applications.

Conclusion: The capabilities of 3D printing can be harnessed to develop innovative analytical models and equipment for evaluating drug carrier systems for non-standard routes, such as the ocular route.

3

Desarrollo de un fotoestimulador portátil de cinco primarios para evaluar la adaptación visual al color

José M. Fanchini^{1*}, María L. Sandoval-Salinas^{1,2}, Pablo A. Barrionuevo^{1,3}

¹ Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión (ILAV-CO-NICET), Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

² Instituto de Investigaciones de Biodiversidad Argentina (PID-BA), Facultad de Ciencias Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

³ Allgemeine Psychologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Alemania.

* josem.fanc@gmail.com

Objetivos: La visión es un sistema sensorial que se adapta al hábitat en varios aspectos. Una de esas adaptaciones es la adaptación cromática. En particular, la adaptación cromática a muy largo plazo podría ser mediada por células melanopsínicas. Cuantificar este fenómeno psicofísico es complejo, por lo que se requiere de un dispositivo específico. En este trabajo presentamos el desarrollo de un fotoestimulador

que permita estimular los conos L, M y S, los bastones y las células melanopsínicas de manera selectiva para evaluar la adaptación cromática en seres humanos.

Materiales y métodos: Se utilizaron cinco LEDs monocromáticos de 625 nm, 591 nm, 522 nm, 496 nm y 470 nm, colocados en un casco de realidad virtual de manera de generar una superficie iluminada para cada ojo. A estos LED los controla una microcomputadora Raspberry Pi programada en Python en la que se implementó el método de estimulación selectiva (MES) para activar cada uno de los tipos de fotorreceptores en forma aislada o combinada.

Resultados: Para la correcta aplicación del MES se debieron realizar pruebas exhaustivas. El dispositivo desarrollado permite obtener homogeneidades mayores al 97% para cada ojo. Cada primario cuenta con una curva de respuesta altamente lineal. El dispositivo tiene una profundidad de 12 bits y cubre un rango de 1 a 100 cd/m².

Conclusión: La construcción y caracterización del dispositivo son complejas; sin embargo, con este equipo se pueden resolver las necesidades expuestas anteriormente de manera óptima. Además, el dispositivo puede usarse en diversos experimentos que requieran de la estimulación no-invasiva de cada uno de los cinco tipos de fotorreceptores en humanos.

Development of a portable five-primary photostimulator to assess visual adaptation to color

Objectives: Vision is a sensory system that adapts to the habitat in several aspects. One of these adaptations is chromatic adaptation. In particular, long-term chromatic adaptation could be mediated by melanopsin-expressing cells. Quantifying this psychophysical phenomenon is complex, thus a specific device is needed. In this work, we present the development of a photostim-

ulator to stimulate L, M, and S cones, rods, and melanopsin-expressing cells in a selective way to evaluate chromatic adaptation in humans beings.

Materials and methods: Five monochromatic LEDs of 625 nm, 591 nm, 522 nm, 496 nm, and 470 nm were used, placed in a virtual reality helmet to generate an illuminated surface for each eye. These LEDs are controlled by a Raspberry Pi microcomputer programmed in Python, in which the method of silent substitution (MES) was implemented to activate each of the types of photoreceptors in isolation or in combination.

Results: Exhaustive tests were required for the correct application of the MES. The developed device allows obtaining homogeneities greater than 97% for each eye. Each primary has a highly linear response curve. The device has a depth of 12 bits and covers a range from 1 to 100 cd/m².

Conclusion: The construction and characterization of the device are complex; however, this equipment can adequately address the aforementioned needs. Furthermore, the device can be used in various experiments requiring non-invasive stimulation of each of the five types of photoreceptors in humans.

COMUNICACIONES ORALES II

Células de Müller: estudios en modelos celulares y animales

4

Rol de las proteínas de matriz extracelular en la restauración de la morfología y funcionalidad de las células gliales de Müller en el modelo de degeneración de retina rd1

Solange Viera*, Harmonie Vallesse-Maurizi, Georgina Coló, Lorena German

Instituto de Investigaciones Bioquímicas (INIBIBB-CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBBYF), Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

* solangeviera23@gmail.com

Propósito: La retinitis pigmentaria (RP) conlleva la pérdida progresiva de fotorreceptores (FR) y esto provoca una disminución en la visión. Las células gliales de Müller (CGM) son claves en el soporte de la supervivencia de los FR. Previamente demostramos que la degeneración de los FR en el ratón rd1 —modelo de RP— afecta la morfología, la reactividad y el potencial regenerativo de las CGM, y la expresión de proteínas de matriz extracelular (ECM). Hipotetizamos que la suplementación con medio condicionado enriquecido en proteínas de ECM (MC-ECM) ayudaría a reestablecer la morfología y funcionalidad glial.

Materiales y métodos: Se obtuvieron cultivos mixtos neuro-gliales de retinas rd1 y controles (wt) de 2 días posnatal, crecidos o no sobre cápsulas pretratadas con MC-ECM que se obtuvo de la línea de neuroblastoma RN22. Se estudió el citoesqueleto de actina mediante la tinción con faloidina, la proliferación usando marcación con BrdU y la muerte celular por tinción con DAPI.

Resultados: El pretratamiento de los cultivos neurogliales rd1 con MC-ECM aumentó el tamaño de los acúmulos neurogliales expandiendo los lamelipodios gliales, restauró la distribución de las adhesiones focales gliales y las conexiones intercelulares, y disminuyó la intensidad de fluorescencia de la faloidina estabilizando la morfología glial. Asimismo, promovió la supervivencia neuronal y la proliferación glial.

Conclusión: Estos hallazgos resaltan el potencial del tratamiento con ECM para mejorar la morfología y la funcionalidad de las CGM en cultivos de retinas con degeneración retinal, contribuyendo así a la supervivencia de los FR.

Role of extracellular matrix proteins in restoring morphology and functionality of Müller glial cells in the retinal degeneration rd1 model

Purpose: Retinitis pigmentosa (RP) leads to the progressive loss of photoreceptors (PRs), resulting in reduced vision. Müller glial cells (MGC) play a critical role in supporting PRs survival. We previously demonstrated that PRs degeneration in the rd1 mouse, an RP model, affects the morphology, reactivity and regenerative potential of MGCs, and the expression of extracellular matrix (ECM) proteins. We hypothesized that supplementation with ECM-enriched conditioned media (ECM-CM) could help restore glial morphology and functionality.

Materials and methods: Mixed neuro-glial cultures were obtained from postnatal day 2 retinas of rd1 and control (wt) mice. These cultures were grown on pre-treated capsules with ECM-CM obtained from the RN22 neuroblastoma cell line or without them. Actin cytoskeleton was studied using phalloidin staining, proliferation was assessed using BrdU labeling, and cell death was determined through DAPI staining.

Results: Pre-treatment of rd1 neuro-glial cultures with ECM-CM increased the size of neuro-glial clusters, expanded glial lamellipodia, restored the distribution of glial focal adhesions and intercellular connections, and reduced phalloidin fluorescence intensity, stabilizing glial morphology. Furthermore, it promoted neuronal survival and glial proliferation.

Conclusion: These findings underscore the potential of ECM treatment to enhance the morphology and functionality of MGCs in retinal cultures affected by retinal degeneration, contributing to PRs survival.

5

Efectos del péptido 17-mer [H105A] en las células gliales de Müller en el modelo de ratón rd10 de degeneración retinal: perspectivas desde cultivos primarios

Harmonie Vallese-Maurizi^{1-2*}, Solange Viera¹, S. Patricia Becerra², Olga L. German¹

¹ Instituto de Investigaciones Bioquímicas (INIBIBB-CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBBYF), Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

² Section of Protein Structure and Function, LRCMB; NEI-NIH, Bethesda, MD, U.S.A.

* hvmaurizi@gmail.com

Objetivos: La retinitis pigmentaria (RP) es una enfermedad caracterizada por la ceguera nocturna causada por la pérdida gradual de fotorreceptores (FR). Poco se sabe del papel de las células gliales de Müller (CGM) en la RP. Las CGM producen factores neurotróficos, incluyendo el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF), que respaldan la supervivencia de los FR. Exploramos los efectos del péptido 17-mer [H105A] derivado del PEDF en CGM en el contexto de la RP.

Materiales y métodos: Obtuvimos cultivos primarios puros de CGM y mixtos de CGM-neuronas, de retinas de ratones posnatal 2 días de un modelo de RP (rd10) y de ratones control (wt). Evaluamos la identidad celular y la morfología mediante inmunocitoquímica y examinamos el citoesqueleto de actina de las CGM mediante tinción con faloidina. La proliferación celular y la muerte se determinaron mediante la incorporación de nucleótidos de BrdU y la tinción con TUNEL y DAPI, respectivamente.

Resultados: Los cultivos de CGM de ratones rd10 mostraron una morfología y un citoesqueleto de actina alterado en comparación con los cultivos wt. El tratamiento con el péptido 17-mer [H105A] mejoró la morfología de las CGM rd10, aumentó la longitud de los lamelipodios y mejoró la organización del citoesqueleto de actina. Además, el péptido redujo la muerte de células neuronales y promovió la proliferación de las CGM en estos cultivos.

Conclusiones: Estos hallazgos sugieren que el péptido 17-mer [H105A] podría ser un candidato terapéutico potencial para la RP, abor-

dando tanto la funcionalidad de las CGM como la supervivencia de las neuronas.

Effects of the 17-mer [H105A] peptide on Müller glial cells in rd10 retinal degeneration mouse model: insights from primary culture

Objectives: Retinitis pigmentosa (RP) is a group of diseases characterized by night blindness caused by the gradual loss of photoreceptors (PRs). The role of Müller glial cells (MGCs) on RP is poorly understood. MGCs produce neurotrophic factors, including PEDF, which support PRs survival. We explored the effects of peptide 17-mer [H105A] derived from pigment epithelium-derived factor on MGCs in the context of RP.

Materials and methods: We isolated pure MGCs and neuron-MGCs cultures from both wild type (wt) and rd10 mouse retinas, a model of human RP. We assessed cellular identity and morphology through immunocytochemistry and examined the actin cytoskeleton of MGCs by phalloidin staining. Cell proliferation was determined by BrdU nucleotide incorporation, and TUNEL and/or DAPI staining, respectively.

Results: MGCs cultures from rd10 mice displayed altered morphology and disrupted actin cytoskeleton compared to wt cultures. Treatment with the 17-mer [H105A] peptide improved rd10 MGCs morphology, increased lamellipodia length, and enhanced actin organization. Furthermore, the peptide reduced neuronal cell death and promoted MGCs proliferation in these cultures.

Conclusions: These findings suggest 17-mer [H105A] as a potential therapeutic candidate for RP, addressing both MGCs health and neuronal survival.

6

La fotosensibilidad de las células gliales de Müller a la luz azul impulsa la activación de CREB

Natalia A. Marchese*, Maximiliano N. Ríos, Mario E. Guido
Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba (CIQUIBIC-CONICET), Departamento de Química Biológica
Ranwel Caputto, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* natalia.marchese@unc.edu.ar

Objetivos: Las células gliales de Müller (CM) expresan opsinas sensibles a luz azul y luz UV (Opn3, RGR y Opn5) y responden a pulsos de luz azul (LA) con respuestas mixtas que implican tanto la liberación de calcio de depósitos internos como la señalización de AMPc. Nuestro objetivo fue caracterizar las respuestas intrínsecas a la luz de las CM evaluando la activación del factor de transcripción CREB.

Materiales y métodos: Cultivos primarios de CM y explantos retinales obtenidos de embriones de pollo (E8) estimulados con LA (480 nm) fueron fijados a diferentes puntos temporales para la ICC de p-CREB.

Resultados: Nuestros resultados muestran una respuesta intrínseca en cultivos primarios de CM inducida por LA y expresada como un aumento en el porcentaje de núcleos p-CREB positivos. Se observa un aumento significativo con 30 y 60 minutos de estimulación con LA comparado con condiciones de oscuridad. Esta respuesta depende de la activación de opsinas, es específica de la longitud de onda y no está relacionada con aumentos de calcio. Además, se observa una detección específica de p-CREB en células gliales en explantos retinales tras 1 h de LA.

Conclusiones: Nuestros resultados proporcionan nuevas evidencias de la fotosensibilidad intrínseca de las CM mediante la activación del

factor de transcripción nuclear CREB en cultivos primarios y en condiciones *ex vivo* en las que se conserva la conectividad retinal. La respuesta celular final resta por ser dilucidada considerando un mayor nivel de complejidad para la detección de luz en la retina.

Müller glial photosensitivity to blue light drives CREB activation

Objectives: Müller glial cells (MC), the most abundant retinal glial cell type, have been shown to express blue- and UV-sensitive opsins (Opn3, RGR and Opn5) and to respond to blue light (BL) pulses with mixed intracellular responses involving both calcium release from internal stores and cAMP signalling. We aimed to further characterise the intrinsic light responses of the inner retina, focusing on MC and the downstream activation of the transcription factor CREB.

Materials and methods: MC primary cultures and retinal explants obtained from chicken embryos (E8) stimulated with BL (480 nm) were fixed at different time points for ICC detection of activated transcriptional p-CREB.

Results: Our results show an intrinsic cellular response in primary cultures of avian MCs induced by BL and expressed as an increased percentage of p-CREB positive nuclei. A significant increase is observed with 30 and 60 minutes of BL stimulation compared to dark conditions. Furthermore, we observe that this response is dependent on opsin activation, specific to the BL wavelength and not related to calcium increases. Remarkably, specific glial p-CREB detection is observed in retinal explants after 1 h of BL stimulation.

Conclusions: Our results provide further evidence for MC intrinsic photosensitivity to BL by activating the nuclear transcription factor CREB in primary cultures and in *ex vivo* conditions where the retinal network is conserved. The

complex output in MC intrinsic photosensitivity remains to be elucidated; considering their multiple described functions, our results suggest a higher level of complexity for light detection in the retina.

COMUNICACIONES ORALES III

Segmento posterior I: estudios en modelos de neurodegeneración

7

Relación entre pupilometría cromática parpadeante con parámetros retinales funcionales y estructurales en pacientes con sospecha de glaucoma primario de ángulo abierto

María C. Tripolone^{1*}, Luis A. Issolio¹⁻², Pablo A. Barrionuevo¹⁻³
¹ Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión (ILAV-CO-NICET), San Miguel de Tucumán, Argentina.

² Departamento de Luminotecnia, Luz y Visión (DLLyV), Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina.

³ Allgemeine Psychologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Alemania.

* mconstanzatripolone@gmail.com

Objetivos: El glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) afecta progresivamente las células ganglionares y sus axones, produciendo un déficit visual irreversible. El diagnóstico en etapas tempranas permitirá aplicar un tratamiento adecuado, conservando la visión. En tanto, resulta crucial contar con herramientas que permitan la detección temprana. La pupilometría cromática es útil en el estudio del estado funcional de la retina. Por lo que este trabajo plantea evaluar las relaciones entre parámetros pupilares con parámetros funcionales y estructurales en pacientes con sospecha de GPAA.

Materiales y métodos: Veinte pacientes con sospecha de GPAA fueron evaluados mediante pupilometría cromática parpadeante, electroretinografía (ERG) y tomografía de coherencia

óptica (OCT). Se evaluaron las correlaciones entre parámetros pupilares con parámetros de ERG y con espesores de la capa de fibra nerviosa retinal (CFNR) y el complejo de células ganglionares (CCG). También se determinaron las relaciones entre parámetros ERG y espesores retinales.

Resultados: Se encontraron asociaciones entre los parámetros evaluados. Particularmente, se encontró una relación significativa entre la amplitud pupilar para estímulos rojos con el espesor de la CFNR y la relación MagnitudD/Magnitud (ERG). Estos últimos también se correlacionaron significativamente. Sin embargo, el modelo que vincula los tres parámetros a la vez no mostró significancia estadística.

Conclusión: La amplitud pupilar se encontró asociada a parámetros estructurales y funcionales vinculados con el daño glaucomatoso. Estos resultados evidencian la utilidad de la pupilometría cromática en la evaluación de cambios tempranos debidos al glaucoma. Sin embargo, un estudio longitudinal permitiría determinar qué parámetros son los que, efectivamente, detectan de manera temprana tales cambios.

Relationship between flickering chromatic pupillometry with functional and structural retinal parameters in patients with suspected primary open-angle glaucoma

Purpose: Primary open-angle glaucoma (POAG) progressively affects the ganglion cell bodies and their axons, producing an irreversible visual deficit. Diagnosis in the early stage will allow appropriate treatment to be applied, while preserving vision. Meanwhile, it is crucial to have tools that allow early detection.

Chromatic pupillometry is useful in the study of retinal function. Therefore, this work proposes to assess the relationships between pupillary parameters with functional and structural parameters in patients with suspected POAG.

Materials and methods: Twenty patients with suspected POAG were evaluated by flickering chromatic pupillometry, electroretinography (ERG), and optical coherence tomography (OCT). Correlations of pupillary parameters with ERG parameters, and with retinal nerve fiber layer (RNFL) and ganglion cells complex (GCC) thickness were evaluated. Also, relationships between ERG parameters and retinal thickness were determined.

Results: Significant associations between the evaluated parameters were found. Particularly, it was found a significant relationship between red stimuli pupillary amplitude with both RNFL thickness and MagnitudeD/Magnitude ratio (ERG). The RNFL thickness and MagnitudeD/Magnitude ratio were also significantly correlated between them. However, the model that relates these three parameters was not statistically significant.

Conclusion: Pupillary amplitude was associated with glaucomatous structural and functional parameters. These results evidence the ability of chromatic pupillometry to assess early changes due to glaucoma. However, a longitudinal study would allow us to determine which parameters early detect these changes.

Prometedora formulación de nanocristales de acetazolamida para el tratamiento del glaucoma

Hamoudi Awde¹, María L. Formica¹, Luis I. Tártara¹, Alejandro J. Paredes², Santiago Palma^{1*}

¹ Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA-CONICET), Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² School of Pharmacy, Queen's University Belfast, United Kingdom.

* sdpalma@unc.edu.ar

El glaucoma es una enfermedad neurodegenerativa, caracterizada por el aumento de la presión intraocular (PIO). La acetazolamida (AZM)

es capaz de controlar la secreción de humor acuoso reduciendo la PIO. Sin embargo, debe administrarse vía oral, requiriendo dosis elevadas dada su escasa permeabilidad. Este estudio propuso una formulación ocular basada en nanocristales de acetazolamida (AZM-NC) para el tratamiento del glaucoma.

Para obtener los AZM-NC se utilizó una técnica de molienda en húmedo asistida por microesferas para generar una nanosuspensión, la que posteriormente fue sometida a un proceso de secado por atomización. Los AZM-NC se caracterizaron en cuanto a tamaño, polidispersidad, potencial Zeta (PZ), análisis morfológico por microscopía electrónica, análisis térmico, FTIR y XRD. La bioactividad se analizó en conejos albinos normotensos (n=9).

Los AZM-NC dispersados mostraron un tamaño menor a 300 nm, mono dispersos y PZ negativo estables hasta 45 a temperatura ambiente. Los espectros FTIR y XRD no mostraron cambios químicos ni en cristalinidad; el análisis térmico no reveló cambios aparentes. Los AZM-NC mostraron una mayor solubilidad y presentaron formas esféricas con una superficie más rugosa. A su vez, los AZM-NC tuvieron mayor grado de bioadhesión en comparación con el polvo de AZM de tamaño normal. Finalmente, la evaluación *in vivo* mostró una disminución significativa de la PIO en el grupo de animales tratados con AZM-NC en suspensión en comparación con los grupos de animales tratados con una suspensión de polvo de AZM como solución salina normal (control).

Por lo tanto, los AZM-NC dispersables son un enfoque prometedor para lograr una formulación sencilla de gotas para los ojos en el tratamiento del glaucoma.

A promising acetazolamide nanocrystals formulation for glaucoma treatment

Glaucoma is a and neurodegenerative disease, characterized by increased high intraocular pressure (IOP). Acetazolamide (AZM) can control aqueous humor secretion, reducing the IOP. However, it must be administered orally and requires high doses. In this study, an ocular formulation based on acetazolamide nanocrystals (AZM-NCs) was proposed to improve glaucoma treatment.

To obtain the AZM-NCs, a microsphere-assisted wet grinding technique was used to generate a nanosuspension, which was then subjected to an atomization drying process. A mixture design was carried out to study optimum drug: stabilizer proportion. AZM-NCs were characterized in terms of size, polydispersity zeta potential (ZP), morphological analysis by electronic microscopy, thermal analysis, FTIR and XRD. Ocular bioactivity was evaluated in normotensive albino rabbits (n=9).

Dispersible AZM-NCs showed an average size of $(303,3 \pm 11,07)$ nm, PDI of $(0,135 \pm 0,0120)$ and ZP of $(-29 \pm 0,97)$ mV, which remained stable until 45 days stored as a dried powder at room temperature. FTIR and XRD spectra showed no chemical nor crystallinity changes, while no apparent thermal changes were revealed by thermal analysis. Furthermore, AZM-NCs showed higher solubility and presented spherical shapes with a rougher surface. In turn, AZM-NCs presented higher bioadhesion degrees compared to normal-sized AZM powder. Finally, *in vivo* evaluation showed a significant IOP decrease in the group of animals treated with dispersible AZM-NCs compared with the groups of animals treated with a suspension of AZM powder as the normal saline solution (control).

Thus, dispersible AZM-NCs are a promising approach to achieving a simple eye drop formulation for the treatment of glaucoma.

La luz LED induce la formación de gránulos de estrés en retina de rata y en cultivos de células 661W

Laura G. Penazzi*, María M. Benedetto, Melisa Malcolm, Manuel G. Bruera, Mario E. Guido, María A. Contín, Eduardo Garbarino-Pico

Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba (CI-QUIBIC-CONICET), Córdoba, Argentina.

* gabriela.penazzi@unc.edu.ar

Propósito: Determinar si las luces LED inducen la formación de gránulos de estrés (GE) en: a) un modelo de estrés crónico que provoca degeneración retinal en ratas y; b) en células 661W (conos) expuestas a estrés lumínico agudo. Los GE son biocondensados citoplásmicos de ribonucleoproteínas que forman parte de la respuesta a estrés promoviendo la supervivencia celular.

Materiales y métodos: a) Se expusieron ratas Wistar a luz LED de 200 lux constante durante 0-8 días. b) Se estimularon cultivos de células 661W con luz LED blanca o azul durante 0-5 horas. Los GE fueron detectados por inmunquímica y microscopía de fluorescencia.

Resultados: En el modelo de estrés crónico encontramos un mayor número de GE en las retinas expuestas a luz respecto a las de control. En todas las condiciones las células ganglionares exhibieron una mayor cantidad de GE que las de la capa nuclear interna, en fotorreceptores observamos muy pocos. En cultivos de 661W, tanto la luz blanca como la azul indujeron GE a partir de 1 hora de estimulación, mientras que los controles en oscuridad no presentaron GE.

Conclusión: De acuerdo con nuestro conocimiento esta constituye la primera descripción de GE en retina. En el modelo de degeneración las neuronas que sobreviven son las que mayor número de GE presentaron; esto

sugiere que podrían favorecer su supervivencia. Sin embargo, no podemos descartar que en fotorreceptores hayan sido inducidos tempranamente y al desencadenarse la muerte celular desaparecieran. De hecho, en cultivos de conos observamos inducción de GE a tiempos cortos.

LED light induces stress granule formation in rat retina and 661W cell cultures

Purpose: This study aimed to determine if LED lights induce stress granule (SG) formation in: a) a chronic stress model causing retinal degeneration in rats; and, b) in 661W cells (cones) exposed to acute light stress. SGs are cytoplasmic ribonucleoprotein biocondensates that are part of the stress response, promoting cell survival.

Materials and methods: a) Wistar rats were exposed to constant 200 lux LED light for 0-8 days. b) 661W cell cultures were stimulated with white or blue LED light for 0-5 hours. SGs were detected using immunochemistry and fluorescence microscopy.

Results: In the chronic stress model, we observed a higher number of SGs in light-exposed retinas compared to controls. In all conditions, ganglion cells exhibited more SGs than cells in the inner nuclear layer, while photoreceptors showed minimal SG formation. In 661W cell cultures, both white and blue light induced SGs after 1 hour of stimulation, whereas control cells kept in darkness showed no SGs.

Conclusion: To the best of our knowledge, this is the first description of SGs in the retina. In the degeneration model, surviving neurons had a higher number of SGs, suggesting a potential role in cell survival. However, it cannot be ruled out that photoreceptors may have had early SG induction, which subsequently disappeared upon cell death. In fact, in cone cell cultures, we observed SG induction at short time points.

Estudio de membrana de fotorreceptores durante la neurodegeneración por exceso de luz: estrategias de neuroprotección y/o neuroregeneración

Julián A. Hellrigl^{1-2*}, Carlos L. Landa², Roxana V. Alasino², María A. Contín¹

¹ Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba (CIQUIBIC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Centro de Excelencia en Productos y Procesos (CEPROCOR), Ministerio de Producción, Ciencia e Innovación Tecnológica de la Provincia de Córdoba, Santa María de Punilla, Córdoba.

* hellrigl.julian@gmail.com

Objetivos: Los fotorreceptores (FR) son neuronas sensibles a la luz, contienen dominios morfológicos denominados segmento externo (SE) que está constituido por membranas internas especializadas en fototransducción. La exposición excesiva a la luz puede inducir daños en la retina dependiendo de la intensidad, longitud de onda y tiempo de exposición. Este equipo de trabajo demostró que la exposición prolongada y constante a luz LED blanca fría de 200 lux promueve la muerte de los FR, la modificación de algunos componentes de membrana y la activación de diversos mecanismos asociados a procesos de estrés y muerte celular. En este trabajo se propone: 1) describir el perfil de expresión de colesterol y gangliósidos en SE de FR de ratas y en cultivo de conos 661W; 2) evaluar el patrón de cambios de colesterol y gangliósidos en función de la luz; y 3) estudiar el efecto neuroprotector de GM1.

Métodos: Los SE serán extraídos por gradiente de sucrosa y ultracentrifugación. La cuantificación de colesterol se realizará utilizando un kit comercial; el perfil de gangliósidos será evaluado mediante tinción con lectinas y por HPLC. Para evaluar el efecto de GM1 se realizarán ensayos *in vitro* donde se evaluará el efecto de GM1 sobre células 661W luego del tratamiento con luz y

también a través de ensayos *in vivo* mediante inyecciones intravítreas de GM1 en animales.

Resultados: Consecuencias preliminares muestran que GM1 tiene efecto neuroprotector en células 661W.

Conclusión: Creemos que tanto el colesterol como los gangliósidos son componentes clave de los mecanismos involucrados en el daño producido por el exceso de luz.

Study of photoreceptor membrane during neurodegeneration due to excessive light: neuroprotection and/or neuroregeneration strategies

Objectives: Photoreceptors (PHRs) are light-sensitive neurons that contain morphological domains known as the outer segment (OS), consisting of specialized inner membranes involved in phototransduction. Excessive light exposure can induce damage to the retina depending on intensity, wavelength, and duration of exposure. This research team has demonstrated that prolonged and constant exposure to cold white LED light at 200 lux promotes PHR death, modification of certain membrane components, and activation of various mechanisms associated with stress and cell death. In this study, the following objectives are proposed: 1) describe the expression profile of cholesterol and gangliosides in the OS of rat PHRs and in 661W cone cell cultures; 2) evaluate the pattern of changes in cholesterol and gangliosides in response to light; and 3) investigate the neuroprotective effect of GM1.

Methods: The OS will be extracted using sucrose gradient and ultracentrifugation. Cholesterol quantification will be performed using a commercial kit, and ganglioside profiles will be evaluated through lectin staining and HPLC. To assess the effect of GM1, *in vitro* assays will be conducted to evaluate its impact on 661W cells following light exposure, and in

vivo tests will involve intravitreal injections of GM1 in animals.

Results: Preliminary results indicate that GM1 has a neuroprotective effect on 661W cells.

Conclusion: It is believed that both cholesterol and gangliosides are key components involved in the damage caused by excessive light exposure.

Degeneración retinal promovida por el exceso de luz LED: análisis de los mecanismos de muerte celular

Manuel G. Bruera^{1*}, María M. Benedetto² y María A. Contín¹

¹ Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto (CIQUI-BIC-CONICET), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* mbruera@unc.edu.ar

Objetivos: La sobreexposición a luces artificiales puede ser uno de los muchos factores que pueden romper la homeostasis retinal, promoviendo el daño en este tejido a través de la muerte de células fotorreceptoras, lo que da lugar a la degeneración retinal (DR). Con el fin de dilucidar los diferentes mecanismos moleculares que conducen a la DR promovida por el exceso de luz, el objetivo de este trabajo fue estudiar la expresión de proteínas involucradas en diferentes procesos de muerte celular en un modelo de DR provocado por luz LED.

Materiales y métodos: Se estimularon ratas Wistar con luz LED (blanca fría-200 lux de intensidad) constante por 2, 4 y 6 días (LL) para provocar la DR. En cada punto de tiempo y en animales controles no expuestos a luz LED (LDR) se evaluó la expresión del ARNm mediante qPCR de diferentes genes involucrados en los procesos de apoptosis y necroptosis celular.

Resultados: El análisis de ARNm mostró que no hay cambios significativos en la expresión de

las proteínas proapoptóticas BAX y Caspasa 8 en los tiempos de estimulación LED estudiados (LL), pero sí en las proteínas antiapoptóticas BCL-2, XIAP y FLIP; necroptóticas RIPK3, en el ligando TNF α y los receptores TNFR1 y TLR4, respecto de animales control LDR.

Conclusión: Estos resultados preliminares, junto a antecedentes previos, sugieren que la necroptosis podría ser el principal mecanismo de muerte de las células fotorreceptoras en modelo de DR provocado por luz LED.

Retinal degeneration promoted by excess of LED light: analysis of cell death mechanisms

Purpose: Overexposure to artificial lights may be one of the many factors that can induce the disruption of retinal homeostasis, promoting the injury of this tissue through photoreceptor cell death promoting retinal degeneration (RD).

In order to elucidate the different molecular mechanisms leading to RD promoted by excess light, the aim of this work was to study the expression of proteins involved in different cell death processes in a model of RD triggered by LED light.

Materials and methods: Wistar rats were stimulated with constant LED light (cold white-200 lux intensity) for 2, 4 and 6 days (LL). At each time point and in control animals not exposed to LED light (LDR), mRNA expression of different genes involved in the processes of cell apoptosis and necroptosis was evaluated by qPCR.

Results: mRNA analysis showed that there were no significant changes in the expression of pro-apoptotic proteins BAX and Caspase 8 at the LED stimulation times studied (LL), but there were significant changes in the expression of anti-apoptotic proteins BCL-2, XIAP and FLIP; necroptotic protein RIPK3, TNF α ligand and TNFR1 and TLR4 receptors, with respect to LDR control animals.

Conclusion: These preliminary results, together with previous precedents, suggest that necroptosis could be the main mechanism of photoreceptor cell death in LED light-induced RD model.

Elevados niveles de $\alpha 2$ -macroglobulina en retinas sanas inducen alteraciones neurogliales compatibles con retinopatías

Yamila Fernández^{1*}, María Victoria Vaglianti¹, María Constanza Paz¹, Paula V. Subirada^{1,2}, María Cecilia Sánchez¹.

¹ Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* yamila.fernandez.841@unc.edu.ar

Objetivos: Recientemente, $\alpha 2$ -macroglobulina ($\alpha 2M$) ha sido propuesta como un mediador de neurotoxicidad en retinopatías proliferativas. En este trabajo analizamos la capacidad de inducir *in vivo*, alteraciones funcionales, vasculares y marcadores de daño glial y neuronal.

Materiales y métodos: Con el propósito de incrementar los niveles de expresión endógena de $\alpha 2m$ en ratones C57BL/6, se inyectó por vía intravítrea en el día posnatal 12 (P12), 1 μ l de $\alpha 2M^*$ (transformada con metilamina), concentración final 120 nM. A P17 se analizaron alteraciones vasculares en flatmounts retinales, teñidos con lectina Griffonia Simplicifolia Isolectin B4 conjugada con Alexa 488. A este tiempo y a P26, se evaluó funcionalidad retinal por electroretinograma (ERG) de flash, expresión de marcadores de daño y estrés glial, como glutamina sintasa (GS) y la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) por Western blot.

Resultados: El tratamiento con $\alpha 2M^*$ no modificó la red vascular respecto de animales inyectados con vehículo. En el ERG se observó una tendencia en el incremento de latencia de la

onda-a y en la amplitud, una disminución a P17 acentuándose a P26. Respecto de la amplitud de la onda-b la tendencia a disminuir fue similar a P17 y a P26, mientras que la latencia mostró un perfil similar a la onda-a. Finalmente, a P26 la expresión de GFAP aumentó significativamente ($p < 0,05$) observándose además una disminución significativa ($p < 0,01$) en GS.

Conclusión: Estos resultados preliminares indican que elevados niveles de $\alpha 2M$ en retinas sanas, fueron capaces de inducir alteraciones neurogliales y la sugieren como un mediador de neurotoxicidad.

High levels of $\alpha 2$ -macroglobulin in healthy retinas induce neuro-glial alterations compatible with retinopathies

Purpose: Recently, $\alpha 2$ -macroglobulin ($\alpha 2M$) has been proposed as a mediator of neurotoxicity in proliferative retinopathies. In this work, we analyze the $\alpha 2M$ ability to induce *in vivo* functional and vascular alterations and markers of glial and neuronal injury.

Materials and methods: With the purpose of increasing the levels of endogenous expression of $\alpha 2m$ in C57BL/6 mice, 1 μ l of $\alpha 2M^*$ (transformed with methylamine), final concentration of 120 nM, was intravitreally injected on postnatal day 12 (P12). At P17, vascular alterations were analyzed in retinal flat-mount stained with Griffonia Simplicifolia Isolectin B4 lectin conjugated with Alexa 488. At this time and at P26, retinal functionality was evaluated by flash electroretinogram (ERG), expression of damage markers and glial stress, such as glutamine synthase (GS) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) by Western blot.

Results: Treatment with $\alpha 2M^*$ did not modify vascular alterations compared to animals injected with vehicle. In the ERG, a tendency was observed in the increase in latency of the

a-wave and a decrease in the amplitude, at P17, accentuating at P26. Regarding the amplitude of the b-wave, the tendency to decrease was similar to P17 and P26, while the latency showed a similar profile to the a-wave. Finally, at P26 the expression of GFAP increased significantly ($p<0.05$) whereas a significant decrease ($p<0.01$) in GS was also observed.

Conclusion: These preliminary results underscore the role of $\alpha 2M$ as a mediator of neurotoxicity in the pathogenesis of retinopathies.

COMUNICACIONES ORALES IV

Segmento posterior II: estudio de la degeneración macular asociada con la edad

13

Caracterización de la expresión de LRP1 en un modelo murino de neovascularización coroidea inducida por láser

Albana Tovo^{1*}, Paula V. Subirada², Felicitas Romano¹, Agustín S. F. Campos Londero³, Josué Gaspar⁴, José D. Luna Pinto⁴, María C. Sánchez¹, Gustavo A. Chiabrando³, Pablo F. Barcelona¹

¹ Centro de Investigación en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

³ Centro de Investigación en Medicina Traslacional Severo Raúl Amuchástegui (CIMETSA-CONICET), Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba (IUCBC), Córdoba, Argentina.

⁴ Departamento de Vítreo-Retina, Centro Privado de Ojos Romagosa, Fundación VER, Córdoba, Argentina.

* albanatovo@unc.edu.ar

Objetivo: La degeneración macular relacionada a la edad (DMAE) en su etapa de neovascularización coroidea (NVC) es la principal causa de ceguera en adultos. Nuestro laboratorio demostró que LRP1 participa en la neovascularización retinal. Otros autores lo proponen como regulador del proceso inflamatorio.

Nuestro objetivo es caracterizar su expresión y localización en células mononucleares fagocíticas (CMF) en retina y coroides durante la NVC.

Materiales y métodos: Ratones C57BL/6 se trataron con cuatro disparos de láser por ojo. La expresión de LRP1 se analizó por Western blot y el transcripto mediante qPCR. Su expresión en CMF (F4/80, CD68) se evaluó por IF en flatmounts de EPR-coroides y en criocortes de retina. Las CMF se caracterizaron por citometría de flujo (CD11b, F4/80, CX3CR1, CCR2).

Resultados: En la retina se observa un aumento creciente de los niveles de LRP1 mientras que en coroides ocurre en los primeros 4 días. A ese mismo tiempo, se ve marca positiva de LRP1 en CMF de ambos tejidos. No se evidencian cambios en la transcripción génica. Se encuentra un incremento de CMF, siendo microglía un 90% en retina y 50% en coroides. Se evidencian subas de CMF LRP1+ en ambos tejidos. En coroides se observa un aumento de CMF CCR2+.

Conclusión: Nuestros resultados mostraron aumentos tempranos de LRP1 en CMF de animales CNV. El aumento de marcadores quimio-tácticos en CMF coroides y su expresión de LRP1 podrían vincularse con el inicio y/o progresión de la NVC. Más estudios son necesarios para comprender el rol de LRP1 durante la NVC.

Characterization of LRP1 expression in a mice model of choroidal neovascularization induced by laser

Objective: Age-related macular degeneration (AMD) in its choroidal neovascularization (CNV) stage is the leading cause of blindness in adults. Our lab has demonstrated that LRP1 participates in retinal neovascularization. Other authors postulate LRP1 as a regulator of inflammation. Our objective is to characterize its expression and localization in mononuclear phagocytes (MP) in retina and choroid during CNV.

Materials and methods: C57BL/6 mice were treated with four spots of laser per eye. LRP1 expression was analyzed by Western blot and its transcript levels by qPCR. Its expression in MP (F4/80, CD68) was evaluated by IF in RPE-choroid flatmounts and retinal cryosections. MP were characterized by flow cytometry (CD11b, F4/80, CX3CR1, CCR2).

Results: In retina, a sustained increase of LRP1 levels was observed while in choroid this effect happens in the first four days. At the same time-point LRP1's immunofluorescence is positive in MP in both tissues. No changes in transcript levels were observed. A rise in MP count was found, where microglia represents 90% in retina and 50% in choroid. An increase in LRP1+ MP is seen in both tissues. In choroid, higher levels of CCR2+ MP were observed.

Conclusion: Our results show early increases of LRP1 in MP of CNV animals. Higher chemotactic markers in MP and LRP1 expression in this cell population could be involved in the onset and/or progression of CNV. More studies are needed to understand the role of LRP1 during CNV.

14

Alternativas terapéuticas para tratar la degeneración macular asociada a la edad en países subdesarrollados

Vanessa Torbidoni^{1*}, Valeria Riarte¹, Lucas Martínez¹, Gastón Valverde², Alejandro Berra²

¹ Laboratorio de Biología Celular y Molecular (bioCyM), Instituto Argentino de Veterinaria, Ambiente y Salud (IAVAS), Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina.

² Centro de Medicina Traslacional (CEMET), Hospital El Cruce, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina.

* vtorbidoni@umaza.edu.ar

Objetivos: Explorar el efecto de la membrana amniótica humana (hAM) sobre las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) expuestas al estrés oxidativo.

Materiales y métodos: Se expusieron células del EPR (ARPE-19) a peróxido de hidrógeno (H₂O₂, 0,1-0,4 mM) *in vitro* para reproducir el entorno oxidativo en la DMAE. Analizamos el efecto del pretratamiento y postratamiento con hAM disponible en preparaciones líquidas en ensayos de herida, muerte celular (ioduro de propidio/naranja de acridina, PI/AO) y supervivencia (MTT).

Resultados: Observamos que después de 24 horas de exposición a H₂O₂ (0,2 Mm), las células del EPR sufren muerte celular con varios núcleos con tinción IP. En el ensayo de la herida, la monocapa completa comenzó a degenerar y el MTT mostró un 50% de supervivencia. Sin embargo, el pretratamiento con 0,2ug/ul de hAM, bloqueó completamente el efecto del H₂O₂ en los ensayos IP/AO y MTT. En el ensayo de la herida, las células comenzaron a migrar en el área de la herida. El postratamiento con hAM mostró una supervivencia del 70% en los ensayos MTT e IP/AO, pero fue menor que la observada con el pretratamiento. En el ensayo de la herida, el postratamiento preserva la monocapa, pero no hubo migración en el área de la herida.

Conclusiones: hAM podría ser una alternativa económica para reducir los efectos oxidativos en la DMAE. Vamos a estudiar las propiedades antiangiogénicas de estos preparados de hAM en condiciones oxidativas y también, las mejores formas de aplicarlos.

Therapeutic alternatives to treat age related macular degeneration in underdeveloped countries

Objectives: To explore the effect of human amniotic membrane (hAM) on retinal pigment epithelium (RPE) cells exposed to oxidative stress.

Material and methods: RPE cells (ARPE-19) were exposed to hydrogen peroxide (H₂O₂, 0.1-0.4mM) *in vitro*, to reproduce the oxidative

environment in AMD. We analyzed the effect of pre-treatment and post-treatment with hAM available in liquid preparations on wound, propidium iodide/acridine orange (PI/AO) and MTT assays.

Results: We observed that after 24 hs of exposure to H₂O₂ (0.2mM), the RPE cells suffer from cell death, with several nuclei with IP staining. In the wound assay, the complete monolayer starts to degenerate and the MTT shown a 50% of survival. Nevertheless, the pre-treatment with 0.2ug/ul of hAM, entirely blocked the effect of H₂O₂ in the IP/AO and MTT assays. In the wound assay, the cells started to migrate in the wound area. The post-treatment with hAM showed a 70% of survival on MTT and IP/AO assays, but it was lower than that observed with the pre-treatment. In the wound assay, the post-treatment preserves the monolayer, but there was not migration in the wound area.

Conclusions: hAM could be an inexpensive alternative to reduce the oxidative effects in AMD. We are going to study the anti-angiogenic properties of these preparations of hAM under oxidative conditions and also, the better ways to apply them.

15

Estudios in vitro del sistema LRP1/ α 2M en células mononucleares fagocíticas en un contexto inflamatorio

Felicitas Romano^{1*}, Albana Tovo¹, Agustín Campos Londero², Gustavo A. Chiabrando², María C. Sánchez¹, Paula V. Suñerola³, Pablo F. Barcelona¹

¹ Centro de Investigación en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Centro de Investigación en Medicina Traslacional Severo Raúl Amichástegui (CIMETSA-CONICET), Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba (IUCBC), Córdoba, Argentina.

³ Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* felicitas.romano@mi.unc.edu.ar

Objetivo: Nuestro laboratorio ha demostrado cambios en los niveles de α 2M LRP1 en células mononucleares fagocíticas (MF) en un modelo de neovascularización coroidea (NVC) inducida por láser. Algunos autores postulan a LRP1 como regulador de la inflamación. El objetivo de este trabajo es evaluar la expresión de LRP1 en células MF posterior a la activación de la respuesta inflamatoria por parte de células del epitelio pigmentario (RPE).

Materiales y métodos: Se emplearon líneas celulares de microglía (EOC2), de monocitos (THP1), de macrófagos (RAW 264.7) y de epitelio pigmentario (ARPE-19). Células RAW se expusieron a sobrenadante de células ARPE-19 previamente incubadas o no a LPS (1ug/ul) o α 2M (60mM) por 24 horas. La expresión del receptor LRP1 fue evaluada por Western blot y microscopía confocal.

Resultados: En células RAW se observó un aumento de los niveles de LRP1 después de la exposición a sobrenadantes de RPE, previamente incubadas con α 2M. Un efecto similar se observó con la exposición directa con α 2M. No se detectó este efecto con el sobrenadante de RPE incubado con LPS ni con la exposición directa con LPS.

Conclusiones: Estos resultados preliminares sugieren que factores liberados por el RPE previamente inducido por α 2M produce marcados cambios en la expresión de LRP1 en células MF. Futuros estudios son necesarios para conocer los mecanismos por los cuales las células del RPE inducen cambios en los niveles de LRP1 en células MF durante su activación con α 2M.

In vitro studies of the LRP1/ α 2M system in phagocytic mononuclear cells in an inflammatory context

Objective: Our laboratory has demonstrated in a model of choroidal neovascularization (CNV) induced by laser changes in α 2M and LRP1 lev-

els in phagocytic mononuclear cells (MF). Some authors postulate at LRP1 as an inflammation regulator. The objective of this work is to evaluate the LRP1 expression in MF cells after the cellular activation by retinal pigment epithelium (RPE) cells on inflammatory response.

Materials and methods: Microglia (EOC2), monocytes (THP1), macrophages (RAW 264.7) and pigment epithelium (ARPE-19) cell lines were used. RAW cells were exposed to supernatant from ARPE-19 cells previously incubated or not with LPS (1ug/ul) or α 2M (60mM) for 24 hours. LRP1 receptor expression was assessed by Western blot and confocal microscopy.

Results: In RAW cells, an increase in LRP1 levels was observed after exposure to RPE supernatants, previously incubated with α 2M. Similar effect was observed with direct exposure to α 2M. This effect was not detected with the RPE supernatant incubated with LPS, nor with direct exposure with LPS.

Conclusions: These preliminary results suggest that factors released by the RPE previously induced by α 2M produce marked changes in LRP1 expression in MF cells. Future studies are necessary to understand the mechanisms by which RPE cells induce changes in LRP1 levels in MF cells during their activation with α 2M.

16

La señalización vía receptores de membrana de la esfingosina-1-fosfato es necesaria para el ensamblado de adhesiones focales en el epitelio pigmentario de retina

Camila Torlaschi*, Gabriela Gutiérrez Jofré, Nora P. Rotstein, M. Victoria Simón

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INI-BIBB-CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF), Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina

* camilatorlaschi@gmail.com

Objetivos: La disrupción de la barrera formada por el epitelio pigmentario de la retina (EPR) caracteriza a muchas retinopatías proliferativas. Demostramos que un esfingolípido bioactivo —la esfingosina-1-fosfato (S1P)— promueve la migración y la respuesta inflamatoria en estas células. Investigamos ahora si S1P regula la formación de adhesiones focales (FA), esenciales para formar dicha barrera.

Materiales y métodos: Tratamos a cultivos de la línea celular de EPR, ARPE-19, con PF543, inhibidor de esfingosina quinasa 1 (SphK1), con S1P o ceramida-1-fosfato (C1P), o con W146 y JTE013, antagonistas para los receptores de S1P S1P1 y S1P2, respectivamente. Analizamos migración por el ensayo de la herida y la morfología celular y expresión de paxilina, proteína de ensamblado de las FA, por inmunocitoquímica.

Resultados: El PF543 disminuyó la migración celular en cultivos confluentes. En cultivos 50% confluentes, PF543 indujo la retracción celular, con $34 \pm 2\%$ ($p > 0,01$) de células elongadas, ausentes en los controles. La relación largo/ancho celular aumentó de 1,6 en los controles a 5,3 con PF543. El agregado de S1P, y no de C1P, restauró la morfología celular, reduciendo las células elongadas a $8 \pm 1,4\%$. W146 y JTE013 bloquearon parcialmente la recuperación de la morfología inducida por S1P. El PF543 provocó la desaparición de los acúmulos puntuados de paxilina presentes en los controles y el agregado de S1P los restauró.

Conclusión: La señalización de adentro hacia afuera de S1P, a través de S1P1 y S1P2 está involucrada en la preservación de la morfología de las células de EPR y el ensamblaje de las FA.

Sphingosine-1-phosphate signaling through membrane receptors is required for the assembly of focal adhesions in retina pigment epithelial cells

Purpose: The disruption of the barrier formed by retina pigment epithelium (RPE) cells characterizes many proliferative retinopathies. We have demonstrated that a bioactive sphingolipid, sphingosine-1-phosphate (S1P) promotes migration and an inflammatory response in RPE cells. We have now investigated whether S1P regulates the formation of focal adhesions (FA), essential for forming this barrier.

Methods: Human RPE cell line (ARPE-19) cultures were treated with PF543, a sphingosine kinase 1 (SphK1) inhibitor, with S1P or ceramide-1-phosphate (C1P), or with W146 and JTE013, antagonists for S1P receptors S1P1 and S1P2, respectively. Cell migration was analyzed by the scratch wound assay, and cell morphology and expression of paxillin, a FA scaffold protein, by immunocytochemistry.

Results: PF543 markedly decreased cell migration in confluent cultures. In 50% confluent cultures PF543 promoted cell retraction; highly elongated cells, absent in controls, augmented to $34 \pm 2\%$ ($p > 0.01$), their cell length/width ratio increasing from 1.6 in controls to 5.3. Addition of S1P, but not of C1P, restored cell morphology, reducing elongated cells to $8 \pm 1.4\%$. W146 and JTE-013 partially blocked S1P restoration of cell morphology. The spot-like paxillin clusters present in the cell periphery in controls, disappeared in PF543-treated cells and were restored after S1P addition.

Conclusion: Inside-out signaling by S1P, through S1P1 and S1P2, is involved in the preservation of RPE cell morphology and in the assembly of FA.

COMUNICACIONES ORALES IV

Estudios en retinopatía diabética

Participación de $\alpha 2$ -macroglobulin en las alteraciones funcionales y neuronales en una retinopatía no proliferativa inducida por un síndrome metabólico en ratón

Agustina Nuñez^{1-2*}, María V. Vaglianti¹⁻², Yamila Fernández¹⁻², María C. Sánchez¹⁻², María C. Paz¹⁻³

¹ Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

³ Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* agustina.nunez.235@mi.unc.edu.ar

El síndrome metabólico (MetSyn) afecta retina y desencadena retinopatía. Esta enfermedad presenta alteraciones vasculares y progresiva neurodegeneración. La $\alpha 2$ -macroglobulina ($\alpha 2$ -M) ha sido propuesta como mediadora de neurotoxicidad a través de su receptor LRP-1. Previamente estudiamos la expresión de $\alpha 2$ -M y LRP-1 en neuronas y células de Müller de la INL y en células ganglionares de retina de ratón, observando mayor expresión de $\alpha 2$ -M en ratones con alteraciones metabólicas. El propósito del trabajo fue evaluar el rol de $\alpha 2$ -M en la función (ERG) y la muerte celular retinal en un modelo de ratón de MetSyn con características de retinopatía temprana. Ratones ApoE KO de 2 meses de edad, alimentados con dieta normal (ND) o dieta 10% p/v de fructosa (FD) en agua de bebida, recibieron dos inyecciones intravítreas de anticuerpo monoclonal anti $\alpha 2$ -M a los dos meses de dieta, y un mes después se evaluó la función retinal (ERG) y muerte celular (TUNEL) en criosecciones de retina. Análisis estadístico por ANOVA de dos vías y Bonferroni

($p \leq 0,05$). Se siguieron estándares de comités ARVO y CICUAL-FCQ. Los resultados mostraron un aumento de la onda *a* en ratones ApoE KO con anti $\alpha 2$ -M ($p < 0,01$; $p < 0,013$), un aumento de la onda *b* ($p < 0,0001$) y OPs ($p < 0,0094$) en ApoE KO FD con anti $\alpha 2$ -M y disminución de células TUNEL positivas en ApoE KO con anti $\alpha 2$ -M. Estos resultados sustentan la participación de $\alpha 2$ -M en la neurodegeneración en retinopatía no proliferativa, posiblemente mediante su receptor específico LRP-1.

$\alpha 2$ -macroglobulin participation in functional and neuronal alterations in a non-proliferative retinopathy induced by metabolic syndrome in mouse

Metabolic syndrome (MetSyn) affects retina, triggering retinopathy. This disease presents vascular alterations and a progressive neuronal degeneration. $\alpha 2$ -macroglobulin ($\alpha 2$ -M) has been proposed as a mediator of neurotoxicity, through their specific receptor LRP-1. Our previous results showed $\alpha 2$ -M and LRP-1 expression in the inner nuclear layer (Müller cells and neurons) and in ganglion cells of mouse retina. Increased $\alpha 2$ -M protein expression in mice retinas with metabolic alterations was shown. The purpose of work was to evaluate the role of $\alpha 2$ -M in retinal function (ERG) and cell death in mouse model of MetSyn with features of early stage of retinopathy, neuronal impairment and mild vascular alterations. ApoE KO mice fed with normal diet (ND) or 10% w/v fructose diet (FD) in drinking water from 2 months of age were used. Mice received two intravitreal injections of monoclonal antibody anti $\alpha 2$ -M, after two months of diet. Retinal function (ERG) and cell death (TUNEL) in retinal cryosections was evaluated, after three months of diet. Statistical analysis based in two-way ANOVA and Bonferroni post-hoc ($p \leq 0,05$). Experimental procedures followed standards of ARVO and CICUAL-FCQ

committees. Results showed an increased a-wave of ApoE KO mice with anti $\alpha 2$ -M ($p < 0,01$; $p < 0,013$) and increased b-wave ($p < 0,0001$) and OPs ($p < 0,0094$) of ApoE KO FD with anti $\alpha 2$ -M, and decreased TUNEL-positive cells in ApoE KO mice with anti $\alpha 2$ -M. These results support $\alpha 2$ -M's participation in neurodegeneration in non-proliferative retinopathy, possibly thought its specific receptor LRP-1.

18

Desarrollo de una herramienta de aprendizaje profundo para la detección precoz de casos referibles de retinopatía diabética

Ana B. Rusconi^{1*}, María A. Ricci Lara¹, Tomás Ortiz Basso², María C. Pozzoni², Gonzalo Gossn², Daniel R. Luna¹, Sonia E. Benítez¹

¹ Departamento de Informática en Salud, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

² Departamento de Oftalmología, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

* anabeatrizrusconi@gmail.com

Objetivos: Desarrollar un modelo de aprendizaje profundo para detectar retinografías derivables a un especialista debido a la presencia de hallazgos de retinopatía diabética.

Materiales y métodos: Se utilizó un subconjunto de la base de datos pública EyePACS. Éste surge de la selección de imágenes de buena y moderada calidad, resultando en 10.223 imágenes de entrenamiento y 13.029 de testeo. Además, se evaluaron 2.135 imágenes de un programa de telescreening de la provincia de La Pampa para utilizarse como evaluación externa.

El preprocesamiento de los datos consistió en la selección de imágenes sólo de retina, centrado de la imagen en la retina y en un aumento de contraste entre las diferentes estructuras presentes.

El entrenamiento del modelo consistió en la extracción de características de las imágenes que servirían para clasificarlas en los dos casos

posibles: “Referible”, “No referible”. Este proceso se repitió hasta obtener parámetros óptimos del modelo.

Resultados: Para la evaluación se utilizaron imágenes nunca vistas por el modelo. Sobre el conjunto de prueba de EyePACS se logró una sensibilidad del 76% (IC95% 0,75-0,78) para los casos referibles. Para el conjunto de La Pampa se obtuvo una sensibilidad del 97% (IC95% 0,92-1) para los casos referibles.

Conclusión: Se construyó un pipeline para el procesamiento y clasificación de retinografías que alcanzó buenos resultados y resultó de buena precisión para la aplicación clínica. Como futuros pasos se plantea mejorar el modelo buscando obtener una mayor sensibilidad para los casos críticos (referibles).

Development of a deep learning tool for early detection of referable cases of diabetic retinopathy

Purpose: To develop a deep-learning model to detect retinographies referable to a specialist due to the presence of diabetic retinopathy findings.

Materials and methods: A subset of the public EyePACS database was used. It arises from the selection of good- and moderate-quality images, resulting in 10,223 training images and 13,029 test images. In addition, 2,135 images from a telescreening program in La Pampa province were used for external evaluation.

Preprocessing of the data included selection of pure retinal images, centering of the retinal images, and contrast enhancement between the different structures. The model training stage consisted of extracting features from the images that would be used to classify them into the two possible cases: “Referable”, “Non-referable”. This process was repeated until the optimal model parameters were found.

Results: Images never seen by the model were used for the evaluation. On the EyePACS test

set, a sensitivity of 76% (95% CI 0.75-0.78) was achieved for referable cases. For the La Pampa set, a sensitivity of 97% (95% CI 0.92-1) was obtained for referable cases.

Conclusion: A pipeline for the processing and classification of retinographies was built which achieved good results and acceptable accuracy for clinical use. As future steps, it is proposed to improve the model to achieve higher sensitivity for critical cases (referable).

19

La activación de la vía fosfolipasa D media el estrés oxidativo en las células del epitelio pigmentario de la retina expuestas a altos niveles de glucosa

María S. Echevarría*, Paula E. Tenconi, Melina V. Mateos
Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INI-BIBB-CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF), Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

* msechevarria@inibibb-conicet.gob.ar

Objetivo: Las isoformas clásicas de la fosfolipasa D (PLD1 y 2) median la respuesta inflamatoria en las células del epitelio pigmentario de la retina (RPE) expuestas a altos niveles de glucosa (HG). En este trabajo estudiamos la relación entre el estrés oxidativo (OS) y la activación de PLD observada en las células de RPE expuestas a HG.

Métodos: Expusimos células ARPE-19 y D407 a HG (33 mM) o a normoglucosa (NG, 5,5 mM) durante 24 horas. Utilizando VU0359595 (PLD1i, 0,5 µM), VU0285655-1 (PLD2i, 0,5 µM) o celecoxib (10 µM), inhibimos PLD1, PLD2 y ciclooxigenasa-2 (COX-2), respectivamente. Evaluamos la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), el potencial de la membrana mitocondrial (PMM), los niveles de glutatión (GSH) y la vía Nrf-2.

Resultados: En las células expuestas a HG observamos aumento de ROS y disminución del

PMM. Mientras que los inhibidores de las PLD (PLDis) previnieron ambos efectos, el OS fue independiente de COX-2. El agregado exógeno de ácido fosfatídico y diacilglicerol, productos de la vía PLD, aumentó la producción de ROS y redujo el PMM. En las células expuestas a HG observamos activación de Nrf-2 y aumento en la expresión de enzimas antioxidantes, lo que se pudo prevenir pretratándolas con PLDis. Además, los niveles de GSH aumentaron en las células de RPE tratadas con PLDis.

Conclusiones: Aunque se requieren nuevos experimentos para comprender completamente de qué manera PLD media el OS en el RPE expuesto a HG, demostramos que los PLDis previenen el OS por mecanismos independientes de Nrf-2 y COX-2.

Phospholipase D activation mediates oxidative stress in retinal pigment epithelium cells exposed to high glucose levels

Purpose: We previously demonstrated that classical phospholipase D isoforms (PLD1 and 2) mediate the inflammatory response of retinal pigment epithelium (RPE) cells induced by high glucose (HG) levels. This study explores the relationship between oxidative stress (OS) and PLD activation observed in RPE cells exposed to HG.

Methods: ARPE-19 and D407 cells were exposed to HG (33 mM) or control condition (NG, 5.5 mM) for 24 h. To inhibit PLD1, PLD2 and cyclooxygenase-2 (COX-2), VU0359595 (PLD1i, 0.5 μ M), VU0285655-1 (PLD2i, 0.5 μ M) or celecoxib (10 μ M) were used, respectively. Reactive oxygen species (ROS), mitochondrial membrane potential (MMP), glutathione (GSH) levels and Nrf-2 pathway were evaluated.

Results: HG-exposure significantly increased ROS levels and reduced MMP in both RPE lines, with respect to NG. PLD inhibitors (PLDis) prevented both effects but OS was indepen-

dent of COX-2 activity. Also, exogenously added phosphatidic acid (PA) and diacylglycerol (DAG), PLD pathway products, increased OS and reduced MMP. Cells exposed to HG showed Nrf-2 activation and increased expression of antioxidant enzymes, these events were not observed when cells were pre-treated with PLDis. In addition, GSH levels were increased in RPE cells treated with PLDis.

Conclusions: Our results demonstrate that PLDis prevent OS generated in RPE cells exposed to HG in a Nrf-2 and COX-2 independent manner. Further experiments are needed to fully elucidate the mechanisms by which the PLD pathway mediates OS in RPE cells exposed to inflammatory injury.

COMUNICACIONES ORALES V

Segmento anterior: modelos experimentales para estudios en alteración corneal y cataratas

20

Inmunidad de tipo 2 favorece la neuroregeneración corneal en un modelo de daño químico corneal

Agostina Cernutto*, Manuela Pizzano, Alexia Vereertbruggen, Florencia Sabbione, Irene A. Keitelman, Carolina M. Shiromizu, Douglas Vera Aguilar, Federico Fuentes, Mirta N. Giordano, Analía S. Trevani, Jeremías G. Galletti
Laboratorio de Inmunidad Innata, Instituto de Medicina Experimental (CONICET), Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

* agoscernutto@outlook.com

Objetivo: En diversas enfermedades de la superficie ocular los nervios corneales se ven ampliamente afectados; sin embargo se desconocen los mecanismos implicados. Considerando que la respuesta inmune de tipo 2 promueve la regeneración nerviosa en el cerebro, nosotros hipotetizamos que la respuesta Th2 en la superficie ocular podría favorecer la regeneración nerviosa luego del

tratamiento con cloruro de benzalconio (BAK), un conservante utilizado frecuentemente en formulaciones oftalmológicas que se sabe presenta neurotoxicidad.

Materiales y métodos: Se indujo daño corneal mediante instilaciones de BAK 0,1% en ratones OTII (TCR específico para ovalbúmina [OVA]) inmunizados con alum+OVA para inducir una respuesta Th2. Se estudió la producción de citoquinas por las células TCD4+ esplénicas para corroborar la correcta polarización hacia el perfil Th2. Para inducir una respuesta Th2 en la córnea se instilaron los ratones de forma diaria con OVA o PBS como control. Se utilizó la sensibilidad mecánica como un indicador funcional de la neuroregeneración corneal *in vivo*. A su vez, se estudió la densidad nerviosa por microscopía confocal.

Resultados: Los ratones inmunizados con alum presentaban un mayor porcentaje de células TCD4+ productoras de IL-4, confirmando la polarización a un perfil Th2. A su vez los ratones instilados con OVA tuvieron una recuperación de la mecanosensibilidad corneal más acelerada respecto del control. A su vez se observó una mayor densidad nerviosa en los ratones que recibieron OVA.

Conclusión: El reclutamiento de células Th2 favorece la regeneración nerviosa en la superficie ocular luego del daño corneal por toxicidad con BAK.

Type 2 immunity favors corneal neuroregeneration in a corneal chemical injury model

Objective: In various diseases of the ocular surface, corneal nerves are extensively affected; however, the mechanisms involved are unknown. Considering that a type 2 immune response promotes nerve regeneration in the brain, we hypothesized that a Th2 response on the ocular surface could favor nerve regeneration following treatment with benzalkonium chloride (BAK),

a preservative commonly used in ophthalmic formulations known to have neurotoxicity.

Materials and methods: Corneal damage was induced by instilling 0.1% BAK in OTII mice (specific for ovalbumin [OVA]) immunized with alum+OVA to induce a Th2 response. The production of cytokines by splenic CD4+ T cells was studied to confirm the correct polarization towards the Th2 profile. To induce a Th2 response in the cornea, mice were instilled daily with OVA or PBS as a control. Mechanical sensitivity was used as a functional indicator of corneal neuroregeneration *in vivo*, and nerve density was studied by confocal microscopy.

Results: Mice immunized with alum had a higher percentage of IL-4-producing CD4+ T cells, confirming polarization towards a Th2 profile. Furthermore, mice instilled with OVA showed a faster recovery of corneal mechanosensitivity compared to the control. Additionally, a higher nerve density was observed in the mice that received OVA.

Conclusion: The recruitment of Th2 cells promotes nerve regeneration on the ocular surface following corneal damage due to BAK toxicity.

21

La señalización por TRPV1 facilita la degeneración axonal de las fibras nerviosas sensoriales corneales en ojo seco, independientemente de las células T CD4+

Manuela Pizzano*, Alexia Vereertbrugghen, Agostina Cernutto, Florencia Sabbione, Irene A. Keitelman, Carolina M. Shiromizu, Douglas Vera Aguilar, Federico Fuentes, Mirta N. Giordano, Analía S. Trevani, Jeremías G. Galletti
Laboratorio de Inmunidad Innata, Instituto de Medicina Experimental (CONICET), Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

* manuelapizzano1@gmail.com

Objetivos: El receptor de potencial transitorio vaniloide tipo 1 (TRPV1) responde a ligandos proinflamatorios que aumentan en el ojo

seco (OS). Su sobreactivación promueve la neurodegeneración *in vitro*. Aquí exploramos su rol y asociación en el daño nervioso corneal generado.

Materiales y métodos: Inducimos OS quirúrgico en ratones wild-type (OS-wt) y TRPV1 knockout (OS-TRPV1KO). Evaluamos la función nerviosa corneal por sensibilidad mecánica y capsaicina corneal, morfología epitelial y nerviosa por microscopía confocal. A su vez realizamos transferencia adoptiva de células TCD4+ a ratones deficientes en células T e inhibimos farmacológicamente a TRPV1 en OS-wt. La expresión génica fue medida en ganglios trigeminales por RT-qPCR.

Resultados: Ambas cepas desarrollaron desecación ocular con daño epitelial comparable. La sensibilidad mecánica, proporción de cierre ocular y morfología nerviosa corneal no son afectados en OS-TRPV1KO. La sensibilidad a capsaicina aumenta en OSwt, y esto coincide al inhibir farmacológicamente el canal. Las células TCD4+ Th1/Th17 en ganglios drenantes y conjuntivas son comparables entre cepas. Además, la transferencia adoptiva de células TCD4+ de OS-wt y OS-TRPV1KO muestran similar patogenicidad. Finalmente, la expresión génica de canales sensoriales y factores de transcripción de neuroregeneración aumentan en OS-wt, pero TNF incrementa en ambas cepas.

Conclusión: Aunque la desecación ocular es suficiente para generar daño nervioso corneal superficial, se requiere de la señalización de TRPV1 para propagarlo hacia la profundidad. Además, la inflamación generada sensibiliza a TRPV1, lo que produciría dolor ocular. Por lo tanto, la sobreactivación de TRPV1 conduciría a daño nervioso y lo convertiría en un potencial target terapéutico.

TRPV1 signaling facilitates axonal degeneration of corneal sensory nerves in dry eye independently of CD4+ T cells

Purpose: Transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) channels respond to inflammation-derived ligands, which increase in DED. Their overactivation promotes axonal degeneration in vitro. Here we explored their role in DED-associated corneal nerve damage.

Materials and methods: Surgical DED was induced in TRPV1-deficient (TRPV1KO) and wild-type (wt) mice. Corneal nerve function was measured by mechanical and capsaicin sensitivity. Nerve and epithelial morphology were assessed by confocal microscopy. Adoptive transfer of CD4+ T cells and pharmacological TRPV1 inhibition in wt mice were also evaluated. Gene expression was measured in the trigeminal ganglion by RT-qPCR.

Results: wt and TRPV1KO mice developed comparable ocular desiccation and corneal epithelial damage. Contrasting with wt DED mice, corneal mechanosensitivity, eye closing ratio and corneal nerve morphology in TRPV1KO mice did not worsen. Capsaicin sensitivity increased in wt DED mice. Pharmacological blockade of ocular TRPV1 activity reproduced these findings in wt DED mice. Th1/Th17 CD4+ T cells in lymph nodes and conjunctivas were comparable between strains. Moreover, CD4+ T cells from wt and TRPV1KO DED mice were equally pathogenic when transferred into Tcell-deficient mice. Gene expression of sensory channels and neuroregeneration transcription factors increased in wt DED mice, but TNF expression increased in both.

Conclusions: Although ocular desiccation is sufficient to trigger superficial corneal nerve

damage in DED, proximal propagation of axonal degeneration requires TRPV1 signaling. Conversely, local inflammation sensitizes ocular TRPV1 channels, which are also involved in ocular pain. Thus, corneal nerve TRPV1 overactivation constitutes a pathogenic event in DED-associated corneal neuropathy and a potential therapeutic target.

Estudio preliminar de la neurodegeneración corneal asociada a enfermedad de Parkinson

Paula V. Subirada^{1-2*}, Agustín Anastasía^{1,3}, María C. Sánchez²

¹ Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

³ Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba (IUCBC), Córdoba, Argentina.

* paula.subirada@unc.edu.ar

Objetivos: La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda patología neurodegenerativa más frecuente en adultos. Previo a la aparición de las alteraciones motoras se han detectado cambios en el sistema nervioso periférico como la disminución de la inervación corneal. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a la pérdida de la complejidad axonal son aún desconocidos. El receptor de neurotrofinas p75 (p75NTR) puede activar la muerte de las células nerviosas, inducir cambios plásticos o remodelación de procesos sinápticos. Aquí estudiaremos si la degeneración de las neuronas que inervan la córnea está asociada a la muerte de las neuronas dopaminérgicas y si la ésta puede ser mediada por el receptor p75NTR en un modelo murino de EP inducido por 6-hidroxidopamina (6-OHDA).

Materiales y métodos: Ratones C57BL/6 de 2 meses de edad fueron anestesiados e inyectados con 6-OHDA en el haz medial del cerebro anterior. Ratones control fueron inyectados con

vehículo. Treinta días posteriores a la cirugía, los ratones fueron perfundidos con PFA 4% y se obtuvieron muestras de cerebro y córnea.

Resultados: Criocortes de cerebro mostraron disminución del número de células dopaminérgicas en el mesencéfalo ventral luego de la inyección de 6-OHDA. Inmunofluorescencias en *flatmounts* de córneas revelaron que el receptor p75NTR se expresa en los axones marcados con β 3-tubulina. Es interesante notar que en ratones inyectados con 6-OHDA se observó menor densidad de nervios corneales, así como cambios en la morfología de las fibras nerviosas.

Conclusión: Estos resultados preliminares sugieren que existe una conexión entre la neurodegeneración dopaminérgica central y los cambios observados en los nervios corneales.

Preliminary studies about corneal neurodegeneration associated to Parkinson disease

Purpose: Parkinson disease (PD) is the second most frequent cause of neurodegeneration in adults. Prior to the appearance of motor changes, peripheral nervous system alterations have been detected, including the decrease in corneal innervation. However, the mechanisms underlying the reduction in corneal axonal complexity are still unknown. The neurotrophin receptor p75 (p75NTR) can mediate neuronal death, induce plastic changes or synaptic remodeling. Here, we will study if the neurodegeneration of corneal nerves is associated to dopaminergic neurons and if it is mediated by p75NTR in a murine model of PD induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA).

Materials and methods: 2 months old C57BL/6 mice were anesthetized and injected with 6-OHDA in the medial bundle of the forebrain. Control mice were injected with vehicle. Thirty days after injection, mice were perfused with PFA4% and samples of both brain and cornea were obtained.

Results: Cryosections of brains showed decreased number of dopaminergic cells in the ventral midbrain after 6-OHDA injection. Immunofluorescence of corneal flatmounts revealed that the receptor p75NTR is expressed in axons, which were labeled with β 3-tubulin. Interestingly, mice injected with 6-OHDA evidenced minor corneal density, as well as changes in axonal morphology.

Conclusion: These preliminary results suggest that there is a connection between central dopaminergic neurodegeneration and the changes observed in corneal nerves.

23

Evaluación *in silico*, *in vitro* e *in vivo* de la interacción de carvacrol frente a las metaloproteinasas de la matriz: estudio de la utilidad terapéutica en patologías oculares

Ayelen Inda^{1-2*}, Sofía M. Martínez¹, María V. Vaglianti³, María C. Paz³, Daniel A. Allemandi¹, María C. Sánchez³, Soledad Ravetti², Daniela A. Quinteros¹

¹ Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA-CONICET), Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Humanas, Centro de Investigación y Transferencia (CIT-CONICET), Universidad Nacional de Villa María, Villa María, Córdoba, Argentina.

³ Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* ayelen.ind@unc.edu.ar

Objetivos: El contacto ocular con productos químicos puede ocasionar graves lesiones oftalmológicas, especialmente sobre la matriz extracelular. En este contexto, las metaloproteinasas de matriz (MMP) desempeñan un papel crucial en los procesos apoptóticos e inflamatorios, destacándose MMP-2 y MMP-9 en la degradación del epitelio corneal. En el presente estudio se evaluó la interacción del carvacrol (CAR) con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes

sobre MMP-2 y MMP-9 mediante estudios *in silico*, *in vitro* e *in vivo*.

Materiales y métodos: Para evaluar la capacidad de unión y orientación energéticamente más favorable de los ligandos con los complejos se llevó a cabo un modelado molecular utilizando el *software* Autodock Vina. Para determinar la actividad enzimática de las MMP y su interacción con CAR se realizaron ensayos *in vitro* sobre células MIO-M1 en condiciones hipóxicas a través de zimografía. Finalmente, para evaluar la interacción *in vivo*, en conejos albinos de raza New Zealand, se ocasionaron lesiones corneales por quemadura con hidróxido de sodio 1M y se administraron de manera tópica una solución de CAR (0,0657 mg/mL) y una solución vehículo como control negativo. Se determinó el área de opacidad y ulceración corneal, como así también se cuantificó la expresión de las pro-MPP2 y pro-MPP9 en fluido lagrimal a través de zimografía durante 14 días.

Resultados: Se evidenció mediante estudios *in silico*, *in vitro* e *in vivo* que CAR interacciona positivamente con los propéptidos de las MPP2 y MPP9 inhibiendo su actividad.

Conclusión: CAR podría evaluarse como una alternativa terapéutica para la regulación de las MMP durante el proceso de degradación corneal.

In silico evaluation *in vitro* and *in vivo* of the interaction of carvacrol against matrix metalloproteinases: study of the therapeutic usefulness in ocular pathologies

Objectives: Eye contact with chemicals can cause serious ophthalmological injuries, especially to the extracellular matrix. In this context, matrix metalloproteinases (MMP) play a crucial role in apoptotic and inflammatory processes, with MMP-2 and MMP-9 standing out in the degradation of the corneal epithelium. In the present study, the interaction of Carvacrol

(CAR), with anti-inflammatory and antioxidant properties, on MMP-2 and MMP-9 was evaluated through *in silico*, *in vitro* and *in vivo* studies.

Materials and methods: To evaluate the most energetically favorable binding and orientation capacity of the ligands with the complexes, molecular modeling was carried out using Autodock Vina software. To determine the enzymatic activity of MMPs and their interaction with CAR, *in vitro* assays were performed on MIO-M1 cells under hypoxic conditions, through zymography. Finally, to evaluate the interaction *in vivo*, in New Zealand albino rabbits, corneal burn lesions were caused with 1M sodium hydroxide and a solution of CAR (0.0657 mg/mL) and a vehicle solution were administered topically as a negative control. The area of corneal opacity and ulceration was determined, as well as the expression of pro-MPP2 and pro-MPP9 in tear fluid through zymography for 14 days.

Results: It was evidenced through *in silico*, *in vitro* and *in vivo* studies that CAR positively interacts with the propeptides of MPP2 and MPP9, inhibiting their activity.

Conclusion: CAR could be evaluated as a therapeutic alternative for the regulation of MMP during the corneal degradation.

³ Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* guaycocheamariana@gmail.com

Objetivo: Evaluar el tiempo de desintegración, la toxicidad y el efecto antiinflamatorio de un implante intraocular biodegradable en un modelo quirúrgico de cataratas.

Materiales y métodos: Se utilizaron 11 conejos albinos. Se midió semanalmente el nivel de desintegración del implante colocado en cámara anterior (n=5) con lámpara de hendidura y se valoraron alteraciones tóxicas. La eficacia antiinflamatoria se verificó desarrollando un modelo de cirugía de cataratas (n=6) y se dividieron en 2 grupos iguales: A (control, ojos sin implante) y B (ojos con implante). Se realizaron controles seriados diarios para determinar el grado de opacidad de humor acuoso (flare) utilizando una escala de 0 (sin opacidad) a 4 (severa opacidad). Se documentaron las mediciones con imágenes digitales a gran aumento.

Resultados: En las primeras dos semanas hubo una desintegración promedio del 50% semanal, entre la segunda y tercera la desintegración fue del 80%; a la cuarta semana ya no había evidencia del implante. Tampoco se observaron alteraciones tóxicas en los compartimentos internos oculares. Con respecto del descenso de los niveles de inflamación posquirúrgicos, hubo una diferencia significativa entre el grupo A y el grupo B: día 1 p=0,01, día 2 p=0,02; en los siguientes días, si bien existió una diferencia clínica entre los grupos, no fue estadísticamente significativa.

Conclusión: El implante provoca un efecto antiinflamatorio significativo en un modelo de cirugía de catarata en conejo sin ocasionar reacciones tóxicas intraoculares. El tiempo de desintegración completa del implante es de aproximadamente 30 días.

Eficacia antiinflamatoria de un implante biodegradable en un modelo de cirugía de catarata

Mariana A. Guaycochea^{1*}, Luis Manlla¹, Abril Sosa¹, Fiorella Sommarivilla¹, Vilma Campana¹, Pablo Miranda², Helena Pardo², Luis I. Tártara³

¹ Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Centro Nanomat, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República (UDELAR), Montevideo, Uruguay.

Anti-inflammatory efficacy of a biodegradable implant in a cataract surgery model

Purpose: To evaluate the disintegration time, toxicity and anti-inflammatory effect of a biodegradable intraocular implant in a cataract surgical model.

Materials and methods: 11 albino rabbits were used. The level of disintegration of the implant placed in the anterior chamber (n=5) was measured weekly with a slit lamp and toxic alterations were assessed. The anti-inflammatory efficacy was verified by developing a cataract surgery model (n=6) and they were divided into 2 equal groups, A (control): eyes without implant and B: eyes with implant. Daily serial controls were performed to determine the degree of aqueous humor opacity (flare) using a scale from 0 (no opacity) to 4 (severe opacity). Measurements were documented with high magnification digital images.

Results: In the first two weeks there was an average disintegration of 50% per week, between the second and third the disintegration was 80%, by the fourth week there was no longer any evidence of the implant. No toxic alterations were observed in the internal ocular compartments. Regarding the decrease in post-surgical inflammation levels, there was a significant difference between group A and group B: day 1: $p=0.01$, day 2 $p=0.02$; In the following days, although there was a difference between the groups, it was not significant.

Conclusion: The implant causes a significant anti-inflammatory effect in a rabbit cataract surgery model, without causing intraocular toxic reactions. The complete disintegration time of the implant is approximately 30 days.

SIMPOSIO DE JÓVENES INVESTIGADORES

25

Nuevas estrategias farmacológicas para sortear la resistencia a melfalán y topotecán in vitro en retinoblastoma

María B. Cancela^{1-2*}, Santiago Zugbi¹, Milagros Dinardi¹, Úrsula Winter³, Claudia Sampor⁴, Adriana Fandiño⁵, Fabiana Lubieniecki⁶, Guillermo Chantada^{2,7}, Angel Carcaboso⁸, Paula Schaiquevich¹⁻²

¹ Unidad de Tratamientos Innovadores, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

³ Blavatnik Institute, Department of Systems Biology, Harvard Medical School, Boston, U.S.A.

⁴ Servicio de Hemato-Oncología, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

⁵ Servicio de Oftalmología, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

⁶ Servicio de Patología, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

⁷ Servicio de Hemato-Oncología, Hospital Universitario Austral, Pilar, Buenos Aires, Argentina.

⁸ Departamento de Hematología y Oncología Pediátrica, Hospital Sant Joan de Deu, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España.

* belucancela@gmail.com

Objetivo: Establecer subtipos celulares de resistencia a melfalán y topotecán (HSJD-RBT-7-TP, HSJD-RBT-7-ML) de retinoblastoma para evaluar modificaciones en la sensibilidad farmacológica como también tratamientos alternativos para sortear la resistencia adquirida.

Materiales y métodos: A partir del establecimiento del cultivo celular HSJD-RBT-7, derivado de la biopsia de un paciente con retinoblastoma intraocular, se generaron los subtipos resistentes exponiéndolos a una dosis semanal de melfalán o topotecán equivalente a la IC50 por tres semanas. Se determinó su sensibilidad a topotecán, melfalán y carboplatino mediante ensayo de

MTT. Como tratamientos alternativos se evaluó la administración de digoxina, azul de metileno y gemcitabina, así como un tratamiento metronómico de topotecán y melfalán.

Resultados: La IC₅₀ de topotecán y melfalán en las células HSJD-RBT-7-TP y HSJD-RBT-7-ML fue 3 y 4,3 veces mayor que en HSJ-RBT-7 ($p < 0,05$). La IC₅₀ de melfalán y carboplatino fue 2,5 y 1,8 veces mayor en HSJD-RBT-7-TP, y de 2,4 y 3,4 veces mayor para topotecán y carboplatino en HSJD-RBT-7-ML, respecto de HSJD-RBT-7. La sensibilidad a digoxina, azul de metileno y gemcitabina fue similar entre los subtipos resistentes y la línea parental. El tratamiento metronómico redujo significativamente el valor de IC₅₀ tanto de topotecán en HSJD-RBT-7-TP como de melfalán en HSJD-RBT-7-ML.

Conclusión: Los subtipos resistentes mostraron una disminución significativa en la sensibilidad farmacológica. Se observó resistencia cruzada a los fármacos más utilizados en la clínica. Tanto la digoxina, el azul de metileno, la gemcitabina como el tratamiento metronómico son alternativas para sortear satisfactoriamente la resistencia a ambos fármacos en retinoblastomas.

Studying different novel pharmacological strategies to overcome melphalan and topotecan in vitro resistance in retinoblastoma

Purpose: Even though ocular survival in patients with retinoblastoma has significantly increased, some patients experience relapses, probably due to pharmacological resistance. Our goal was to establish resistant cellular subtypes to melphalan and topotecan (HSJD-RBT-7-TP, HSJD-RBT-7-ML) and evaluate alternative treatments to overcome acquired resistance.

Materials and methods: Resistant subtypes were generated by exposing a cell culture (HSJD-RBT-7), derived from the intraocular biopsy of a retinoblastoma patient, to a weekly dose of mel-

phalan or topotecan equivalent to the IC₅₀ for three weeks. The sensitivity to topotecan, melphalan, and carboplatin was determined through using MTT assay. As alternative treatments, the administration of digoxin, methylene blue, and gemcitabine, as well as a metronomic treatment with topotecan and melphalan, were evaluated.

Results: The IC₅₀ of topotecan and melphalan in HSJD-RBT-7-TP and HSJD-RBT-7-ML cells was 3 and 4.3 times higher than in HSJ-RBT-7 ($p < 0.05$). The IC₅₀ of melphalan and carboplatin was 2.5 and 1.8 times higher in HSJD-RBT-7-TP, and was 2.4 and 3.4 times higher to topotecan and carboplatin in HSJD-RBT-7-ML, compared to HSJD-RBT-7. Sensitivity to digoxin, methylene blue, and gemcitabine was similar among the resistant subtypes and the parental line. Metronomic treatment significantly reduced the IC₅₀ value of topotecan in HSJD-RBT-7-TP and melphalan in HSJD-RBT-7-ML.

Conclusion: The resistant subtypes exhibited a significant decrease in pharmacological sensitivity. Cross-resistance to commonly used drugs in clinical practice was observed. Digoxin, methylene blue, gemcitabine, and metronomic treatment are viable alternatives to successfully overcome resistance to both drugs in retinoblastoma tumors.

El rol de la vía fosfolipasa D en la función fagocítica de las células del epitelio pigmentario de la retina

Paula E. Tenconi^{1-2*}, Vicente Bermúdez¹⁻², María S. Echeverría¹⁻², Aram Asatryan³, Jorgelina M. Calandria³, Norma M. Giusto¹⁻², Nicolás G. Bazán³, Melina V. Mateos¹⁻²

¹ Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB-CONICET), Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

² Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF), Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

³ Neuroscience Center of Excellence, School of Medicine, Louisiana State University Health New Orleans, New Orleans, U.S.A.

* paula.tenconi@gmail.com

Objetivos: Nuestros resultados previos demostraron que las isoformas clásicas de la fosfolipasa D (PLD1 y PLD2) median la respuesta inflamatoria de las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) expuestas a altos niveles de glucosa (HG). En este trabajo estudiamos el papel de las PLD en la función fagocítica del EPR.

Materiales y métodos: Células ARPE-19 se expusieron a HG (33 mM) o normoglucosa (NG, 5,5 mM) durante 48 y 72 horas. Para inhibir PLD1 y PLD2 las células se pre-incubaron con 5 μ M de VU0359595 (PLD1i) o 5 μ M de VU0285655-1 (PLD2i), respectivamente. La función fagocítica se evaluó utilizando biopartículas verdes pHrodo™ o segmentos externos de fotorreceptores (POS). Los POS internalizados se identificaron utilizando un anticuerpo anti-rodopsina mediante inmunocitoquímica o por Western blot (WB).

Resultados: La exposición a HG durante 48 y 72 horas redujo la función fagocítica de las células del EPR; esta pérdida de función se previno cuando las células se trataron con los inhibidores de las PLD. PLD1i y PLD2i no afectaron la fagocitosis del EPR en condiciones fisiológicas y previnieron el estrés oxidativo inducido por HG.

Conclusión: La inhibición de la vía PLD previene la pérdida de la función fagocítica de las células del EPR expuestas a HG, sin afectar la función o la viabilidad del EPR en condiciones no inflamatorias. Estos resultados nos incentivan a estudiar el papel de la vía PLD en células fotorreceptoras y el efecto de los inhibidores de PLD sobre la función visual *in vivo*.

The role of the phospholipase D pathway in the phagocytic function of retinal pigment epithelium cells

Purpose: We previously described the participation of classical phospholipase D isoforms (PLD1 and PLD2) in the inflammatory response of retinal pigment epithelium (RPE) cells exposed to high

glucose levels (HG). This research studied the role of the PLD pathway in RPE phagocytic function.

Materials and methods: ARPE-19 cells were exposed to HG (33 mM) or to normal glucose concentration (NG, 5.5 mM) for 48 and 72 h and phagocytosis was measured using pHrodo green bioparticles™ or photoreceptor outer segments (POS). To study the role of the PLD pathway, cells were pre-incubated with 5 μ M of VU0359595 (PLD1i) to inhibit PLD1 activity or 5 μ M of VU0285655-1 (PLD2i) to inhibit PLD2. Internalized POS were identified by immunocytochemistry or by Western blot using an anti-rhodopsin antibody.

Results: HG exposure for 48 and 72 h reduced phagocytic function of RPE cells, and this loss of function was prevented when cells were treated with PLD1i or PLD2i selective inhibitors. Furthermore, PLD1i and PLD2i did not affect RPE phagocytosis under physiological conditions and prevented oxidative stress induced by HG.

Conclusions: PLD inhibition prevents the loss of phagocytic function of RPE cells exposed to HG levels without affecting RPE function or viability under non-inflammatory conditions. Due to the relevance of RPE in visual function and in photoreceptor (PR) cells survival, additional experiments are necessary to study the role of the PLD pathway in PR cells and the effect of PLD inhibitors on visual function *in vivo*.

Rol clave de la microglía en el daño retinal inducido por estrés de vida temprana

Juan Salvador Calanni¹, Laura Andrea Pasquini², Hernán Hugo Diéguez¹, Nathaly Bernal Aguirre¹, Damián Dorfman¹, Ruth Estela Rosenstein¹

¹ Laboratorio de Neuroquímica Retiniana y Oftalmología Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

² Departamento de Química Biológica e Instituto de Química y Físicoquímicas Biológicas (IQUIFIB-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

* salvadorcalanni@gmail.com

El estrés de vida temprana (EVT) se refiere a la exposición a estresores severos y/o crónicos durante la etapa perinatal. Aunque sus impactos en el desarrollo cognitivo y emocional son conocidos, su influencia en el sistema visual adulto no está explorada. En un estudio que utilizó un modelo de separación materna con destete temprano (SMDT) en ratones examinamos las consecuencias a largo plazo del EVT en el sistema visual.

Las crías, sometidas a SMDT en diferentes períodos posnatales mostraron cambios significativos. Aunque no afectó las ondas a y b del electroretinograma en los días posnatales (DPNs) 60-75, el EVT provocó una disminución en el número y función de las células ganglionares retinales (CGR). Además, se observó un aumento en el área y tamaño de las células Iba1 (+) de la retina, indicando una mayor presencia de células microgliales ameboides.

Notablemente, la microgliosis precedió a la pérdida de CGR en el DPN 45, lo que sugirió un papel crucial de la microglía en las alteraciones visuales por EVT. Para confirmar esto, se administró sotuletinib, un inhibidor de CSF-1R que depleta la microglía, desde el DPN 35 al DPN 60. En ratones sometidos a EVT, la administración de sotuletinib redujo significativamente la pérdida de densidad y función de las CGR.

En conclusión, estos hallazgos sugieren que las células microgliales pueden desempeñar un papel central en los efectos a largo plazo del EVT en el sistema visual de los ratones, abriendo nuevas vías para comprender y abordar las consecuencias visuales de experiencias traumáticas tempranas.

Key role of microglia on retinal damage induced by early life stress in adult mice

Early life stress (ELS) is defined as a period of severe and/or chronic trauma, as well as environmental/social deprivation or neglect in pre/postnatal stage. Presently, the impact of ELS on the visual system in the adult stage is unknown. Using an animal model of maternal separation with early weaning (MSEW), we analyzed the long-term ELS consequences in the visual system.

Mice were separated from the dams for 2 h at postnatal days (PNDs) 4-6, for 3 h at PNDs 7-9, for 4 h at PNDs 10-13, for 6 h at PNDs 14-16, and weaned at PND17. Control pups were left undisturbed from PND0, and weaned at PND21. At PND 60-75, MSEW did not affect the electroretinogram a- and b-wave amplitude, but decreased retinal ganglion cell (RGC) function and number, and increased retinal Iba-1(+) area, and cell soma size, consistently with an increased number of amoeboid microglial cells. At PND45 microgliosis preceded RGC loss, supporting a key role of microglia in visual function alterations induced by ELS. To investigate this hypothesis, microglial depletion was induced by a treatment with sotuletinib, a colony stimulating factor receptor (CSF-1R) inhibitor, orally and daily administered from PND35 to PND60. Sotuletinib alone did not affect the number or function of RGCs, but it significantly mitigated RGC function and number loss in MSEW mice at PND 60.

In summary, our results suggest that microglial cells could play a key role in long term consequences of early life stress on the visual system of mice.

Mecanismos inmunológicos involucrados en el daño nervioso corneal

Alexia Vereertbrugghen^{1*}, Manuela Pizzano¹, Agostina Cernutto¹, Florencia Sabbione¹, Irene A. Keitelman¹, Carolina M. Shiromizu¹, Douglas Vera Aguilar¹, Federico Fuentes¹, Mirta N. Giordano¹, Analía S. Trevani¹, Cintia S. De Paiva², Jeremías G. Galletti¹

¹ Laboratorio de Inmunidad Innata, Instituto de Medicina Experimental (CONICET), Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

² Department of Ophthalmology, Ocular Surface Center, Cullen Eye Institute, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, U.S.A.

* ale.vereert@gmail.com

Introducción: En el ojo seco (OS), las células T CD4+ promueven la progresión de la enfermedad, pero se desconoce su contribución al daño del epitelio y nervios corneales.

Métodos: Se indujo OS quirúrgico en ratones RAG1KO y wild type (wt). Se evaluó la absorción de fluoresceína y mecanosensibilidad como indicadores de integridad epitelial y la función nerviosa, respectivamente. La morfología nerviosa y epitelial se evaluó mediante microscopía confocal. Ratones RAG1KO recibieron células T CD4+ de ratones wt OS o sham.

Resultados: Los ratones con OS, de ambas cepas, desarrollaron desecación ocular y pérdida de células caliciformes. Ambas cepas mostraron signos de daño epitelial: se perdió la integridad de la barrera epitelial y hubo un aumento de la proliferación celular. En cambio, la mecanosensibilidad disminuyó en ratones wt pero no para los RAG1KO. Además, se observó una mayor pérdida de densidad nerviosa corneal en ratones wt que en ratones RAG1KO. Los ratones RAG1KO que recibieron células T CD4+ de ratones wt con OS mostraron: 1) ausencia de cambios en el epitelio corneal, 2) disminución de la mecanosensibilidad y 3) menor densidad nerviosa en comparación con el control.

Conclusión: En el contexto del OS, los ratones sin células T no desarrollan neuropatía aunque

presentan daño epitelial. A su vez, la transferencia adoptiva de las células T CD4+ a ratones RAG1KO generó daño nervioso corneal en ausencia de manifestaciones epiteliales. Estos resultados indican que en el OS las células T CD4+ impulsan la neurodegeneración corneal, pero no son necesarias para el desarrollo del daño epitelial.

Immunological mechanisms involved in corneal nerve damage

Introduction: In dry eye disease (DED) CD4+ T cells promote disease progression but their contribution to epithelial and neural damage in the cornea is unknown.

Methods: Surgical DED was induced in RAG1KO and wild-type (wt) mice. Corneal epithelial integrity and nerve function were measured by fluorescein uptake and mechanosensitivity, respectively. Nerve and epithelial morphology was evaluated by confocal microscopy of corneal whole mounts. CD4+ T cells from DED or sham wt mice were adoptively transferred to RAG1KO mice.

Results: wt and RAG1KO DED mice developed comparable ocular desiccation and loss of conjunctival goblet cells. Both strains showed comparable DED-induced changes in corneal epithelial cells: barrier function worsened while cell proliferation increased. By contrast, mechanosensitivity progressively dropped in wt but not in RAG1KO mice. In addition, we observed a larger loss of corneal nerve density in wt than in RAG1KO mice with DED. RAG1KO mice that received CD4+ T cells from DED wt mice showed: 1) no change in the proliferation rate and barrier function of the corneal epithelium, 2) decreased mechanosensitivity, and 3) reduced corneal nerve density, compared to sham recipient mice.

Conclusion: In the absence of CD4+ T cells, the development of corneal epithelial damage remains unchanged in DED while there is no

neurodegeneration. Also, adoptive transfer of DED CD4⁺ T cells to RAG1KO mice induced the progressive loss of corneal nerve density but the epithelium remained unchanged. Thus, our results indicate that CD4⁺ T cells drive DED-associated corneal neurodegeneration but are not necessary for the development of epithelial damage.

29

Efecto protector de NO₂-OA sobre la neovascularización y la neurodegeneración de la retina: nuevos conocimientos de las células gliales de Müller

María V. Vaglianti^{1*}, María C. Paz¹, Paula V. Subirada², María B. Joray³, Gustavo Bonacci¹, María C. Sánchez¹

¹ Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra (INIMEC-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

³ Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales y Sustentabilidad José Sánchez Labrador J. S. (CONICET), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.

* mvaglianti@unc.edu.ar

Objetivo: La inflamación y el estrés oxidativo están involucrados en retinopatías neovasculares. Los ácidos grasos-nitrados son antiinflamatorios, antioxidantes y citoprotectores (vía Keap1/Nrf2). Nuestro objetivo fue evaluar el ácido nitro-oleico (NO₂-OA) en el modelo murino de OIR.

Métodos: Se expusieron ratones C57BL/6 (n=35) al modelo OIR. Se utilizaron como controles ratones de la misma edad mantenidos en aire (RA) (n=25). A los ratones OIR se les inyectó intraocular NO₂-OA (5 µM) (n=22) o vehículo (n=13) en P12 e intraperitoneal desde P14 a P23 NO₂-OA (15 mg/kg) o vehículo. En P17 o P26 se sacrificaron los ratones. Los ojos se utilizaron para *flat mount*, TUNEL, WB o RT-PCR. La

funcionalidad retinal se evaluó mediante electroretinografía escotópica (ERG). BAEC se trataron con NO₂-OA (5 µM) más VEGF (10 ng/ml) (n=3). Se utilizó GraphPad Prism para el análisis estadístico.

Resultados: NO₂-OA redujo área avascular y neovascular (p<0,001) en P17 OIR, pero no modificó los niveles de VEGF o PEDF. In vitro, NO₂-OA inhibió la tubulogénesis de las CE (p<0,05) vía Keap1/Nrf2 (p>0,05). WB mostró que NO₂-OA previno el estrés glial (p<0,0001). ERG mostró una disminución significativa en la amplitud de la onda b y un aumento en las latencias de las ondas a y b, una disminución de caspasa-3 total en P26 OIR. Las células TUNEL positivas incrementaron en P26 OIR comparando con RA (p<0,05). Todos estos eventos fueron prevenidos por la inyección de NO₂-OA (p=0,1362), (p=0,0004) (p<0,05).

Conclusiones: En conjunto, estos resultados sugieren que el NO₂-OA podría ser beneficioso para las células de la retina en NR.

Protective effect of NO₂-OA on retinal neovascularization and neurodegeneration: new insights from Müller glial cells

Purpose: Inflammation and oxidative stress are involved in neovascular retinopathies (NR). Nitro-fatty acids have anti-inflammatory, antioxidant and cytoprotective properties (Keap1/Nrf2 pathway). Here, our aim was to evaluate the effect of nitro-oleic acid (NO₂-OA) in oxygen-induced retinopathy mouse model (OIR).

Methods: Briefly, C57BL/6 mice (n=35) were exposed to OIR model. Age-match mice maintained in RA (n=25) were used as controls. OIR mice were intraocular injected with 5 µM of NO₂-OA (n=22) or vehicle (n=13) at P12 and intraperitoneal from P14 to P23 with 15mg/kg of NO₂-OA or vehicle. At P17 or P26 mice were sacrificed. Eyes were fixed for whole mount

staining, TUNEL or used for WB or RT-PCR assays. Retinal functionality was assessed by scotopic electroretinography (ERG). BAEC were treated with NO₂-OA (5 μ M) with the addition of VEGF (10 ng/mL) (n=3). GraphPad Prism was used for statistical analysis.

Results: NO₂-OA induced vascular regrowth ($p < 0.05$) and reduced neovascularization ($p < 0.001$) at P17 OIR, but not modified the VEGF or PEDF levels. In vitro, NO₂-OA inhibited ECs tubulogenesis ($p < 0.05$) via Keap1/Nrf2 ($p > 0.05$). WB assay showed that NO₂-OA pre-

vented the glial stress ($p < 0.0001$). ERG analysis showed a significant decrease in b-wave amplitude and increase in a- and b- wave latencies, accompanied by decreased levels of total caspase-3 protein in P26 OIR. TUNEL-positive cells were significantly higher in P26 OIR compared to RA ($p < 0.05$). All of these pathological events were prevented by NO₂-OA injection ($p = 0.1362$), ($p = 0.0004$) ($p < 0.05$).

Conclusions: Taken together, these results suggests that NO₂-OA treatment could be beneficial for retinal cells in NR.

Índice de autores/Author's index

Los números luego de cada nombre indican la numeración correspondiente a los resúmenes.
Numbers after names indicate the numbering corresponding to the abstracts.

Alasino, Roxana V., 10
 Alcoba, Emilio, 1
 Allemandi, Daniel A., 23
 Álvarez Mendiara, Alejandro, 1
 Anastasía, Agustín, 22
 Andreussi, Luciana, 1
 Arno, Gavin, 1
 Asatrian, Aram, 26
 Aucar, María E., 1
 Ávila, Silvia, 1
 Awde, Hamoudi, 8
 Bainttein, Silvina, 1
 Bárbaro, Evangelina I., 1
 Barcelona, Pablo F., 13, 15
 Barrionuevo, Pablo A., 3, 7
 Bazán, Nicolás G., 26
 Becerra, S. Patricia, 5
 Benedetto, María M., 9, 11
 Benítez, Sonia E., 18
 Bermúdez, Vicente, 26
 Bernal Aguirre, Nathaly, 27
 Berra, Alejandro, 14
 Bonacci, Gustavo, 29
 Bruera, Manuel G., 9, 11
 Calandria, Jorgelina M., 26
 Calanni, Juan Salvador, 27
 Campana, Vilma, 24
 Campos Londero, Agustín, 13, 15
 Cancela, María B., 25
 Canonero, Ivana B., 1
 Capalbo, Luciana, 1
 Carcaboso, Angel, 25
 Cernutto, Agostina, 20-21, 28
 Chantada, Guillermo, 25
 Charles, Martín, 1
 Chiabrando, Gustavo A., 13, 15

Chirino Misisian, Andrea, 1
 Coló, Georgina, 4
 Contín, María A., 9-11
 Daich Varela, Malena, 1
 De Paiva, Cintia S., 28
 Diéguez, Hernán Hugo, 27
 Dinardi, Milagros, 25
 Dipierri, José E., 1
 Dorfman, Damián, 27
 Echevarría, María S., 19, 26
 Espósito, Evangelina, 1
 Fanchini, José M., 3
 Fandiño, Adriana, 25
 Fernández Gabrielli, Laura, 1
 Fernández, Yamila, 12, 17
 Formica, María L., 8
 Francone, Aníbal A., 1
 Fuentes, Federico, 20-21, 28
 Galletti, Jeremías G., 20-21, 28
 Garbarino-Pico, Eduardo, 9
 Gaspar, Josué, 13
 German, Lorena, 4
 German, Olga L., 5
 Giordano, Mirta N., 20-21, 28
 Giusto, Norma M., 26
 Gossn, Gonzalo, 18
 Gras, Julieta, 1
 Guaycochea, Mariana A., 24
 Guido, Mario E., 6, 9
 Gutiérrez Jofré, Gabriela, 16
 Hellrigl, Julián A., 10
 Ibáñez, Agustina, 1
 Inda, Ayelén, 23
 Inga, María E., 1
 Issolio, Luis A., 7
 Joray, María B., 29

- Keitelman, Irene A., 20-21, 28
 Labat, Natalia, 1
 Landa, Carlos L., 10
 Lotersztejn, Vanesa, 1
 Lubieniecki, Fabiana, 25
 Luna, Daniel R., 18
 Luna Pinto, José D., 1, 13
 Malcolm, Melisa, 9
 Manlla, Luis, 24
 Marchese, Natalia A., 6
 Martín, Daniel M., 1
 Martínez, Lucas, 14
 Martínez, Sofía M., 23
 Mateos, Melina V., 19, 26
 Michaelides, Michel, 1
 Miranda, Pablo, 24
 Nuñez, Agustina, 17
 Nuova, Pedro J., 1
 Ormaechea, Gerardo J., 1
 Ortiz Basso, Tomás, 18
 Palma, Santiago Daniel, 2, 8
 Pardo, Helena, 24
 Paredes, Alejandro J., 8
 Pasquini, Laura Andrea, 27
 Paz, María Constanza, 12, 17, 23, 29
 Penazzi, Laura G., 9
 Pérez, Pablo J., 1
 Picotti, Carolina P., 1
 Pizzano, Manuela, 20-21, 28
 Pozzoni, María C., 18
 Quinteros, Daniela A., 23
 Ravetti, Soledad, 23
 Real, Daniel Andrés, 2
 Real, Juan Pablo, 2
 Riarte, Valeria, 14
 Ricci Lara, María A., 18
 Ríos, Maximiliano N., 6
 Romano, Felicitas, 13, 15
 Rosenstein, Ruth Estela, 27
 Rotstein, Nora P., 16
 Rusconi, Ana B., 18
 Sabbione, Florencia, 20-21, 28
 Sampor, Claudia, 25
 Sánchez, María Cecilia, 12-13, 15, 17, 22-23, 29
 Sandoval-Salinas, María L., 3
 Schaiquevich, Paula, 25
 Schlottmann, Patricio G., 1
 Shiromizu, Carolina M., 20-21, 28
 Simón, M. Victoria, 16
 Sipowicz, Juan Ignacio, 2
 Somavilla, Fiorella, 24
 Sosa, Abril, 24
 Subirada, Paula V., 12-13, 15, 22, 29
 Tártara, Luis Ignacio, 2, 8, 24
 Tenconi, Paula E., 19, 26
 Torbidoni, Vanesa, 14
 Torlaschi, Camila, 16
 Tovo, Albana, 13, 15
 Trevani, Analía S., 20-21, 28
 Tripolone, María Constanza, 7
 Vaglianti, María Victoria, 12, 17, 23, 29
 Vallese-Maurizi, Harmonie, 4-5
 Valverde, Gastón, 14
 Vera Aguilar, Douglas, 20-21, 28
 Vereertbrugghen, Alexia, 20-21, 28
 Viera, Solange, 4-5
 Visotto, Mauro, 1
 Winter, Úrsula, 25
 Yadarola, María B., 1
 Zompa, Tamara, 1
 Zugbi, Santiago, 25



Consejo Argentino de Oftalmología,
Tte. Gral. J. D. Perón 1479, PB,
1037AAO Buenos Aires, Argentina.
Teléfono: (54-11) 4374-5400 líneas rotativas.

www.revistaoce.com

Oftalmología
clínica y experimental