

Oftalmología clínica y experimental

Publicación científica del Consejo Argentino de Oftalmología · Volumen 14 · Suplemento 2 · Diciembre 2021 · ISSN 2718-7446



**REUNION ANUAL
AIVO 2021**

UNA VISIÓN CONJUNTA

28-30 OCTUBRE | FORMATO VIRTUAL

AIVO
International
Chapter
Affiliate **AIVO**
Asociación de Investigación
en Visión y Oftalmología

OCE

14.S2

CAO

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

Llevado a cabo del 28 al 30 de octubre de 2021 desde Buenos Aires en formato virtual

Abstracts of research papers presented at the 13th National Meeting of the "Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología" (AIVO) [Association of Research in Vision and Ophthalmology]

Held from Buenos Aires in virtual format, October 28th to 30th, 2021

Oftalmol Clin Exp (ISSN 1851-2658)
2021; 14(S2): S1-S31.

Comité Organizador

Dr. Jeremías Galletti
Dra. María Cecilia Sánchez
Dr. Rodrigo Martín Torres
Dra. Olga Lorena German
Dr. Damián Dorfman
Dra. Melina Valeria Mateos
Dra. Magalí Silberman
Dra. María Mercedes Benedetto
Dr. Pablo Barrionuevo
Dr. Tomas Ortiz Basso

1

Inhibición de la neovascularización retinal mediada por doxiciclina: estudios *in vitro* e *in vivo*

María L. Formica^{1*}, María Constanza Paz¹, Paula Virginia Subirada², Belén Joray³, María Victoria Vaglianti², Pablo Federico Barcelona², José Luna Pinto⁴, Palma Santiago¹, María Cecilia Sánchez²

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

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

³ *IRNASUS-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.*

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

*lina.formica@unc.edu.ar

Objetivos: Con el objetivo de ampliar los blancos terapéuticos en la neovascularización (NV) asociada a patologías retinales isquémicas, se evaluó el efecto *in-vitro* e *in-vivo* de la doxiciclina (DXC) sobre las MMPs y la NV retinal.

Materiales y métodos: Se evaluó la citotoxicidad de DXC en células gliales de Müller (MIO-M1) y en endoteliales de aorta bovina (BAEC) mediante ensayo MTT, mientras que el efecto de

DXC sobre la actividad enzimática de MMP-2 y 9 en MIO-M1 por zimografía y sobre la formación de túbulos en BAEC. En ratones C57BL/6 WT, se evaluó la tolerancia a DXC intravítrea (iv) mediante estudios ERG e histología retinal con H-Eo. En un modelo de retinopatía inducida por oxígeno (OIR) en ratones, se evaluó el efecto de DXC (iv) sobre la actividad y expresión de MMP-2 en homogenatos de retina por zimografía y western-blot; y sobre la NV retinal mediante tinción con isolectina GSA IB4 y anti-MMP 2 en retina montada completa.

Resultados: DXC presentó una citotoxicidad menor al 20% por debajo de 60 µg/mL (MIO-M1) y 6,25 µg/mL (BAEC). En comparación a células incubadas con vehículo, DXC disminuyó significativamente (39±3)% y (52±4)% la actividad basal de MMP-2 y MMP-9 en MIO-M1, respectivamente; y (56±13)% la formación de túbulos de BAEC. En ratones C57BL/6, DXC no modificó los parámetros de ERG, ni la histología retinal. Se observó una tendencia de disminución en la actividad de MMP-2 y la NV retinal en ratones OIR tratados con DXC en comparación al grupo control (vehículo).

Conclusión: DXC, en dosis no citotóxicas, presentó acción inhibitoria sobre la actividad de MMPs tanto *in-vitro* como en la retina de ratones OIR, además de propiedades antiangiogénicas.

Doxycycline-mediated inhibition of retinal neovascularization: studies *in vitro* and *in vivo*

Objectives: With the aim of analyzing groundbreaking therapeutics in neovascularization (NV) associated with ischemic retinal pathologies, the *in-vitro* and *in vivo* effect of doxycycline (DXC) on matrix metalloproteinases (MMPs) and retinal NV was evaluated.

Materials and methods: The cytotoxicity of DXC in Müller glial (MIO-M1) and in bovine aortic endothelial cells (BAEC) was evaluated by MTT assay, while the effect of DXC on the enzymatic activity of MMP-2 and 9 in MIO-M1 by zymography and on tube-formation assay in BAEC. In C57BL/6 WT mice, tolerance to intravitreal (iv) DXC was assessed by ERG studies and retinal histology with H-Eo. In oxygen-in-

duced retinopathy (OIR) mice model, the effect of DXC (iv) on the activity and expression of MMP-2 was evaluated in retinal homogenates by zymography and western blot; and on retinal NV by isolectin GSA-IB4 and anti-MMP-2 staining in whole mounted retina.

Results: DXC presented a cytotoxicity less than 20% below 60 µg/mL (MIO-M1) and 6.25 µg/mL (BAEC). In comparison to cells incubated with vehicle, DXC significantly decreased (39±3)% and (52±4)% the basal activity of MMP-2 and MMP-9 in MIO-M1, respectively; and (56±13)% the BAEC tube formation. In C57BL/6 mice, DXC did not alter ERG parameters or retinal histology. A decreasing trend in MMP-2 activity and retinal NV was observed in OIR mice treated with DXC compared to control group (vehicle).

Conclusion: DXC, in non-cytotoxic doses, exhibited inhibitory action on the activity of MMPs both *in vitro* and in the retina of OIR mice, as well as antiangiogenic properties.

2

La actividad de la monoacilglicerol lipasa asociada al segmento externo de los bastones retinales es regulada por las proteínas involucradas en el proceso de fototransducción

Estefanía Chamorro Aguirre*, Virginia Gaveglio, Ana Clara Pascual, Susana Pasquaré
Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INI-BIBB-CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

*echamorro@inibibb-conicet.gob.ar

Objetivos: Determinar si la actividad de la monoacilglicerol lipasa (MAGL) del segmento externo de los bastones (ROS) era modulada por las proteínas involucradas en el proceso de fototransducción.

Materiales y métodos: La actividad enzimática fue ensayada en las membranas de los ROS tratados con buffers de diferente fuerza iónica, empleando como sustrato monoacilglicerol radiomarcado. Los ROS fueron aislados y purificados de retinas bovinas previamente adaptadas a oscuridad. Estos fueron resuspendidos en buffer Tris-HCL 5 mM (remueve proteínas solu-

bles y periféricas) o Tris-HCL 100 mM (remueve proteínas solubles) a pH 7,4 y expuestos a 3000 luxes por 30 minutos a 25°C (ROS B) o mantenidos en oscuridad a 4°C (ROS O). Luego, los ROS fueron pasados 15 veces por aguja G25x5/8 y centrifugados a 50000xg durante 15 minutos para obtener la fracción de membrana. Las proteínas fueron resueltas por electroforesis y visualizadas por tinción con Coomassie blue.

Resultados: El tratamiento a 5 mM en oscuridad extrajo las proteínas: fosfodiesterasa (PDE), rodopsina quinasa (RK), transducina (Tα) y parte de la arrestina; mientras que el mismo tratamiento en luz produjo la extracción de todas ellas excepto la Tα. El tratamiento a 100 mM en oscuridad o luz extrae totalmente la RK y en alta proporción a la arrestina. La actividad MAGL en membrana de ROS O y ROS B (5 mM) disminuyó 27% y 18%, respectivamente, en relación a la observada en el ROS (O/B) entero.

Conclusión: Estos resultados podrían sugerir un estímulo de la PDE sobre la actividad de la MAGL, ya que en su ausencia la actividad de esta disminuye.

Monoacylglycerol lipase activity associated with the retinal rod outer segment is regulated by the proteins involved in the phototransduction process

Objectives: The purpose of this work was to determine if monoacylglycerol lipase (MAGL) activity of the rod outer segment (ROS) was modulated by the proteins involved in the phototransduction process.

Materials and methods: The enzymatic activity was evaluated in ROS membranes treated with buffers of different ionic strength, using radiolabelled monoacylglycerol as substrate. ROS were isolated and purified from dark-adapted bovine retinas. ROS were resuspended in 5 mM Tris-HCL buffer (removes soluble and peripheral proteins) or 100 mM Tris-HCL (removes soluble proteins) at pH 7.4 and exposed to 3000 lux for 30 minutes at 25 °C (ROS B) or kept in the dark at 4 °C (ROS O). Then, ROS were passed 15 times through a G25x5/8 needle and centrifuged at 50000xg for 15 minutes to obtain the membrane fraction.

Results: Proteins were resolved by electrophoresis and visualized by Coomassie blue staining. Treatment at 5 mM in dark extracted the proteins: phosphodiesterase (PDE), rhodopsin kinase (RK), transducin (Tα) and partially arrestin; while the same treatment in light produced the extraction of all of them except Tα. Treatment at 100 mM in darkness or light extracts RK completely and a high proportion of arrestin. MAGL activity in ROS O and ROS B (5 mM) membranes decreased 27% and 18%, respectively, with respect to that observed in whole ROS (O/B).

Conclusion: These results could suggest a stimulus of PDE on MAGL activity, since this activity decreases in absence of PDE.

3

Diseño del primer ensayo clínico de IMVALVSP1: método experimental y computacional

Guarnieri Fabio^{1-2*}, Nicolas Vottero¹, Gustavo Santiago¹, Rodrigo M. Torres^{1,3}

¹ iMvalv SA, Sunchales, Santa Fe, Argentina.

² CONICET-CIMEC, PTLC, Santa Fe, Argentina.

³ ROMAT Creator Center, Colonia Avellaneda, Entre Ríos, Argentina.

*aguarni@santafe-conicet.gov.ar

Objetivos: Según la 510K Aqueous Shunts de la FDA, se requieren ensayos hidráulicos de gravedad, caudal constante, apertura y cierre, así como un estudio multicéntrico de 50 pacientes para demostrar la seguridad y eficacia de los implantes de drenaje para glaucoma refractario. En este trabajo se propone realizar un diseño del ensayo clínico de un nuevo implante IMVALVSP1 de drenaje, realizando una simulación numérica del mismo a partir de los ensayos *in vitro* realizados.

Materiales y métodos: Se realizaron ensayos de gravedad, caudal constante y apertura y cierre en varios dispositivos con distintos diseños del sistema valvular, siguiendo las 510K Aquos Shunts de la FDA. Se realizó un modelo del sistema implante-ojo siguiendo trabajos anteriores (Sassetti-Guarnieri *et al.*, 2009-2014) introduciendo los parámetros obtenidos en los ensayos hidráulicos de cada implante ensayado.