

EFECTO PREVENTIVO DEL AZUL DE METILENO EN LA RETINOPATIA PROVOCADA POR ASFIXIA PERINATAL EN UN MODELO DE RATAS

Juan Carlos Fernández¹⁻³, Manuel Rey-Funes¹⁻³, Juan José López-Costa¹, Ignacio M. Larrayoz², Alfredo Martínez², César F. Loidl¹

¹. Instituto de Biología Celular y Neurociencia "Prof. E. De Robertis", Facultad de Medicina, U.B.A., ². Centro para la Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), Logroño, España. ³. DERM, ANMAT.

Introducción: La asfixia perinatal (PA) es responsable de una gran proporción de muertes neonatales y secuelas neurológicas. Un tercio de los recién nacidos (NB) asfícticos, dependiendo del grado y duración de la asfixia, desarrollan retinopatía proliferativa isquémica de diferentes grados y ceguera. En la PA, la retina está expuesta a isquemia/reoxigenación, producción excesiva de óxido nítrico (NO) y la consecuente neurotoxicidad. El azul de metileno (MB) integra la lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud, y se indica en metahemoglobinemia; también en el diagnóstico de fistulas, como antiséptico, vasoplejía intra y post operatoria; siendo su uso seguro y económico. Planteamos la hipótesis de que MB inhibiendo principalmente la guanilato ciclasa previene la degeneración retiniana inducida por PA.

Objetivo: Estudiar el efecto del MB para prevenir el daño retiniano en ratas sometidas a un modelo de asfixia perinatal.

Materiales y métodos: Se incluyeron NB macho de ratas Sprague-Dawley sometidos a un modelo experimental de AP (CICUAL: Resolución N.º. 2079/07, Facultad de Medicina, U.B.A.). Se estudiaron cuatro grupos: los nacidos a término divididos en controles (CTL) y controles tratados con MB 2 mg/Kg subcutáneo (CTL+ MB), y los nacidos luego de ser expuestos a PA por 20 minutos a 37°C (PA) divididos en expuestos (PA) y expuestos tratados con MB 2 mg/Kg subcutáneo (PA-MB). El estudio incluyó 100 ratas (n = 5 grupo/tiempo), ver Tabla 1.

Tabla 1: Grupos y tiempos

Grupo	Horas	Días
CTL	4, 6 y 12	6 y 45
CTL + MB	4, 6 y 12	6 y 45
PA	4, 6 y 12	6 y 45
PA + MB	4, 6 y 12	6 y 45

Transcurrido 45 días se valoró el daño funcional en la retina por retinografía (Akonix AK-EQ-BP-BASE), estructural por el grado de apoptosis con técnica de TUNEL (TdT-mediated dUTP nick end labeling) y molecular (por expresión génica de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), metaloproteasa 9 (MMP9)). Los resultados se analizaron con GraphPad Prism 6.

Resultados: La electroretinografía realizada a los 45 días del nacimiento mostró una disminución significativa en la amplitud de las ondas *a* y *b* de los ERG y de los potenciales oscilatorios en el grupo PA con respecto a PA+MB (figuras 1 y 2). Por TUNEL (figura 3) se observó un aumento significativo de células ganglionares en los animales PA comparado con PA+MB y con H-E (figura 4) un aumento significativo del espesor de la retina interna en los animales PA con respecto a PA+MB. En el grupo PA se observó aumentos significativos para la expresión nucleotídica de marcadores inflamatorios, proangiogénicos y de respuesta astrogial comparado con PA+MB (figura 5)

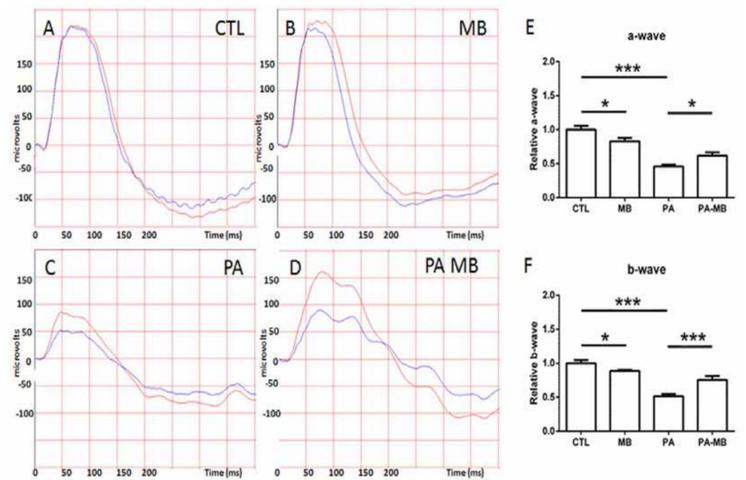


Figura 1: ERG

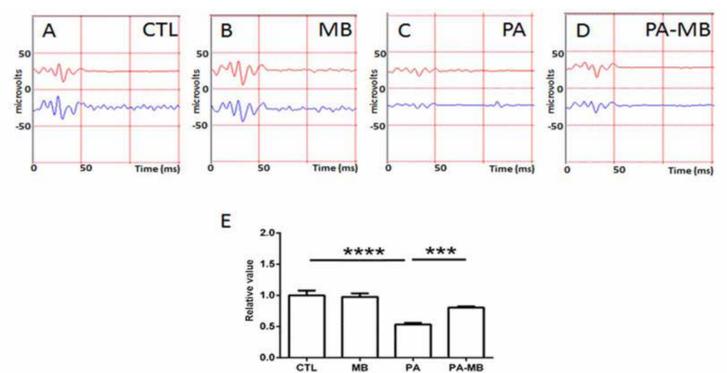


Figura 2: Potenciales oscilatorios

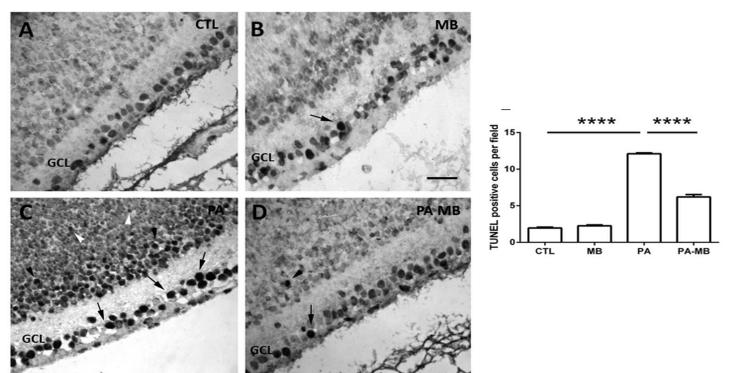


Figura 3: TUNEL. A: CTL; B: CTL-MB; C: PA; D: PA-MB

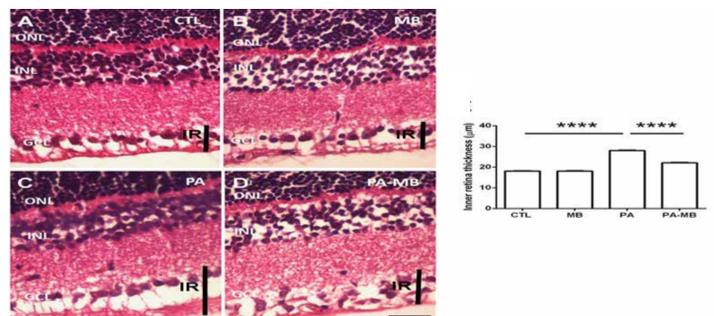


Figura 4: Histología con Hematoxilina-Eosina

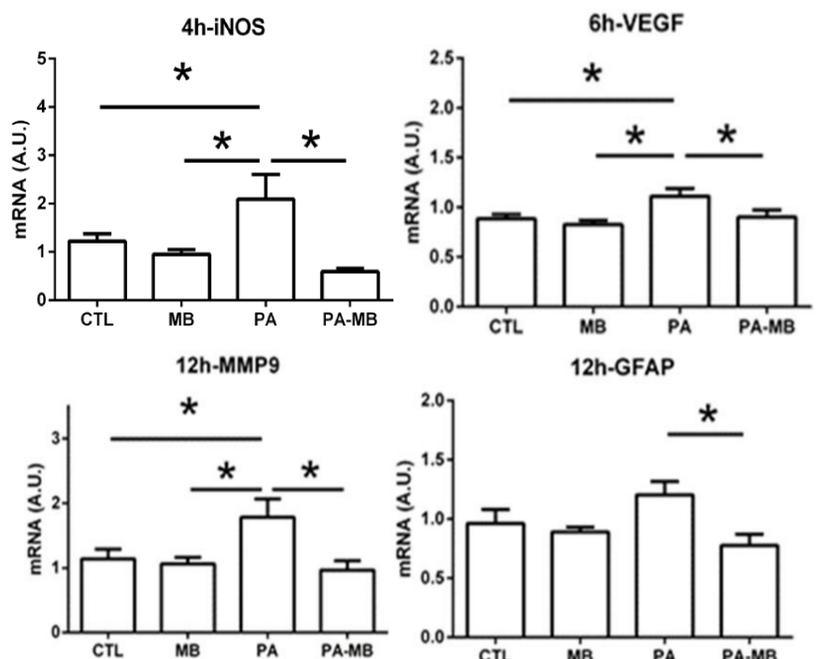


Figura 5

Conclusiones: En nuestro estudio observamos que el MB regula a mediadores clave de la inflamación, la remodelación de la matriz, la gliosis y la angiogénesis en el ojo, su perfil de seguridad y bajo costo podría ser prometedor como herramienta útil para generar protección al daño por asfixia perinatal.