

Alexia Vereertbrugghen<sup>1</sup>, Manuela Pizzano<sup>1</sup>, Jeremías Galletti<sup>1</sup>, Melina del Papa<sup>2</sup>, M. Silvia Passerini<sup>2</sup>

1. Laboratorio de inmunidad innata, Instituto de Medicina Experimental . CONICET-Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires. 2. Departamento Médico, Laboratorios Poen.

## ANTECEDENTES

- Los plexos nerviosos corneales son esenciales para mantener la homeostasis de la superficie ocular. No solo participan de la vía sensitiva, sino que están involucrados en el trofismo del epitelio corneal.<sup>1</sup>
- El uso crónico de antiglaucomatosos conservados con cloruro de benzalconio (BAK) disminuye la densidad del plexo nervioso subbasal corneal reduciendo la sensibilidad corneal de los pacientes que reciben de manera crónica antiglaucomatosos conservados con BAK.<sup>1,2</sup>
- Estudios previos demostraron que el hialuronato de sodio (HS) posee un efecto neutralizante de la toxicidad inducida por el BAK.<sup>3</sup>
- No existe evidencia acerca del efecto protector del HS sobre los plexos corneales afectados por la acción tóxica del BAK durante la regeneración nerviosa.

## OBJETIVO

**Evaluar el efecto protector del hialuronato de sodio (HS) frente a la toxicidad inducida por el cloruro de benzalconio (BAK) durante la regeneración nerviosa corneal en un modelo animal.**

## MÉTODOS

Este estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAL).

Un total de 48 ratones Balb/c de 6 a 8 semanas de edad y de ambos sexos fueron divididos en 4 grupos de tratamiento:

**1) Control:** solución salina; **2) HS:** hialuronato de sodio 0,4% 3v/día; **3) BAK:** cloruro de benzalconio 0,01% 2v/día; **4) BAK+HS:** cloruro de benzalconio 0,01% 2v/día + hialuronato de sodio 0,4% 3 v/día.

Todos los grupos recibieron 3 instilaciones diarias (8 a.m., 2 p.m. y 8 p.m.). Para el grupo BAK+HS se administró en la primera y última instilación primero BAK y luego de 10 minutos HS. El régimen comenzó 48 horas antes de la hora 0, cuando se realizó una úlcera corneal controlada en el ojo derecho de todos los ratones, continuando el esquema posológico por 10 días. Luego de este período de tiempo los ratones fueron sacrificados y los ojos fueron fijados y criopreservados.

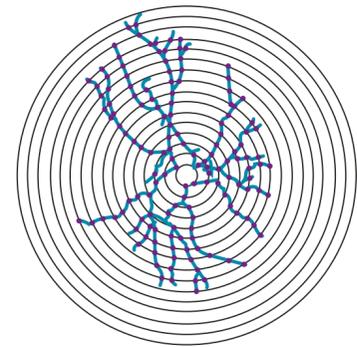
Las córneas fueron evaluadas mediante microscopía confocal previa marcación con anticuerpo monoclonal anti-tubulina βIII. Se obtuvieron cortes seriados cada 10 μm que abarcan epitelio corneal y estroma anterior.

El análisis de la morfología nerviosa corneal se realizó mediante el análisis de Sholl de complejidad nerviosa utilizando un radio de esfera inicial de 10 μm y un incremento de 10 μm hasta un máximo de 100 μm.

Los resultados se informan como media ± SD. Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos factores (tratamiento y radios) con una significancia estadística de 0,05.

### ¿En qué consiste el análisis de Sholl?

Es una metodología para el análisis de la morfología nerviosa que consiste en trazar círculos concéntricos y luego contar en cada círculo trazado la cantidad de intersecciones nerviosas que pasan sobre estos círculos.



Esto permite luego graficar el número de intersecciones por radio concéntrico.

A mayor n° de intersecciones, mayor complejidad de la trama nerviosa ya que representa una mayor ramificación de los plexos nerviosos.

## RESULTADOS

De las 48 córneas, 38 fueron consideradas analizables: 7 del control, 11 de HS, 10 de BAK y 10 de BAK+HS.

La trama nerviosa presentó una complejidad creciente en los grupos BAK < BAK+HS < Control < HS, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los grupos de tratamiento.

Considerando el radio más grande analizado (100 μm), el n° de intersecciones fue de: 5,1 ± 2,2 para BAK; 8,05 ± 2,2 para BAK+HS; 11,5 ± 2,6 para control y 15,8 ± 2,1 para HS.

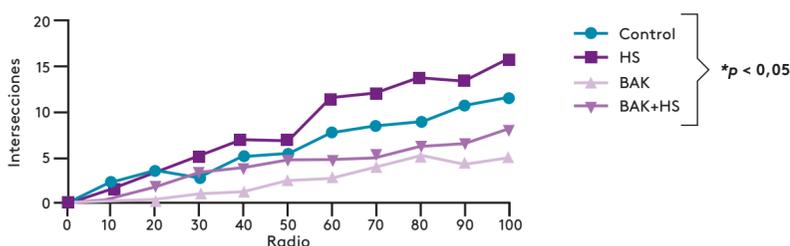


Figura 1. N° de intersecciones en función del radio analizado por grupo de tratamiento. \*ANOVA dos factores (tratamiento y radio).

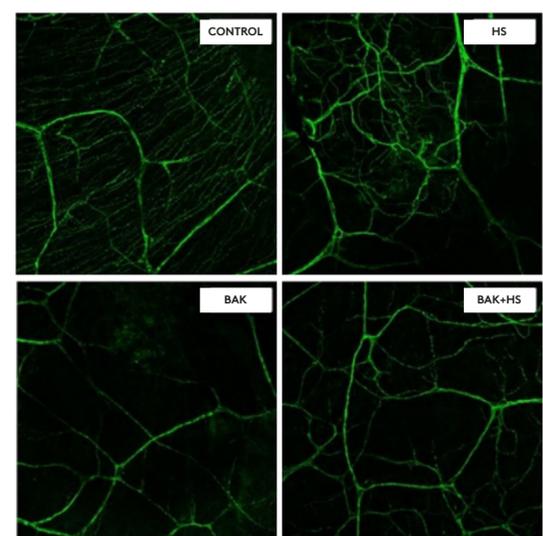


Figura 2. Imágenes representativas de la microscopía confocal para cada grupo de tratamiento.

## CONCLUSIONES

- El HS protege a los plexos nerviosos corneales de la acción tóxica del BAK durante el proceso de regeneración nerviosa.
- El HS en ausencia de BAK parecería acelerar la regeneración corneal en comparación al grupo control.
- El HS podría ser considerado como tratamiento concomitante tanto en tratamientos crónicos con formulaciones oftálmicas conservadas con BAK como en el postquirúrgico para promover la regeneración del plexo nervioso corneal.

### Bibliografía:

1. Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P, Service RS, Eye M, England N. In vivo confocal microscopy of corneal nerves in health and disease. *Ocul Surf.* 2017;15(1):15-47.
2. Martone G, Frezzotti P, Tosi GM, Traversi C, Mittica V, Malandrini A, Pichierrri P, Balestrazzi A PE. An In Vivo Confocal Microscopy Analysis of Effects of Topical Antiglaucoma Therapy With Preservative on Corneal Innervation and Morphology. *Am J Ophthalmol.* 2009;147(4):725-35.
3. Sabbione, Florencia; Vereertbrugghen, Alexia; del Papa, Melina, Passerini, María Silvia; Galletti J. Evaluación in vitro del efecto protector del hialuronato de sodio frente a la toxicidad inducida por el cloruro de benzalconio. 2021. Presentado en Congreso CAO 2021. Buenos Aires, Argentina.

Este estudio fue patrocinador por: **Laboratorios POEN**  
Consultas: Melina del Papa (mdelpapa@poen.net.ar)