

# Medición de las proteínas oxidadas en humor vítreo de caninos con glaucoma primario. Estudio preliminar.

WEICHLER N\*; FERREIRA S\*\*; HERRERA D\*

\*Unidad de Oftalmología, Hospital Escuela de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280, Buenos Aires. E-mail: [nw@fvvet.uba.ar](mailto:nw@fvvet.uba.ar)

\*\*Laboratorio de Stress Oxidativo, Cátedra de Química General e Inorgánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

**INTRODUCCIÓN** El humor vítreo interviene activamente en el metabolismo ocular funcionando como sitio de almacenamiento de metabolitos retinales como el glucógeno, el potasio y los aminoácidos. Los productos de desechos retinales y lenticulares, incluyendo el ácido láctico y los radicales libres, son captados por el vítreo, lo cual sirve como protección del cristalino y la retina de los componentes tóxicos. Lo que hoy se conoce como daño glaucomatoso es un complejo sistema de reacciones bioquímicas relacionado con diferentes mecanismos, que se desencadena por el aumento de la PIO pero que continúa en forma independiente de ese evento. Estos procesos incluyen: isquemia, obstrucción del flujo axoplasmático, y el daño oxidativo producido por las especies reactivas del oxígeno (ROS). Estas sustancias juegan un papel importante en el daño glaucomatoso del nervio óptico, por lo que el estudio de las sustancias prooxidantes y antioxidantes propias del ojo, y sus modificaciones en la enfermedad es un campo en constante investigación. Una de las principales sustancias que se utilizan como indicadores de daño oxidativo son las proteínas, por lo tanto el estudio de la modificación de las mismas en pacientes que presentan glaucoma primario y consecuente daño neurodegenerativo es una manera de evaluar la magnitud del daño oxidativo presente en el humor vítreo. El objetivo del presente trabajo fue conocer los valores de proteínas totales y oxidadas en el humor vítreo de ojos caninos normales y de ojos con glaucoma primario.

## MATERIALES Y METODOS

Como "grupo normales" se utilizaron 6 cadáveres (2 hembras y 4 machos) sin signos de enfermedad ocular. El promedio de edad de los mismos fue de 8,50 años (rango de 5 a 13 años). Estos perros habían fallecido por causas traumáticas en un Centro de Emergencias, y las muestras de humor vítreo fueron tomadas dentro de las 2 horas de fallecidos.

Como "grupo glaucoma" se utilizaron 6 caninos (4 hembras y 2 machos) con un promedio de edad de 9 años (rango de 5 a 12 años) con glaucoma primario diagnosticado mediante biomicroscopía, oftalmoscopia directa, indirecta, tonometría de aplanación y gonioscopia. En el momento del estudio la media de presión intraocular (PIO) fue de 53,16 mmHg (rango de 23 a 70 mmHg). En todos los casos las muestras de humor vítreo fueron obtenidas mediante una aguja 25/8 y una jeringa de 3cc, siendo las mismas conservadas inmediatamente en freezer hasta su procesamiento. La concentración de proteínas en las diferentes muestras fue medida de acuerdo al método de Lowry y col. (1951), que se basa en la detección espectrofotométrica del producto de la reacción entre las proteínas presentes en la muestra con  $\text{Cu}^{2+}$  en medio alcalino, en presencia del reactivo fosfomolibdico-fosfotúngstico (reactivo de Folin-Ciocalteu). Se leyó la absorbancia a 625 nm y se utilizó como patrón una solución de albúmina de suero bovino (1 mg/ mL). Se determinaron las proteínas totales para poder tener una referencia de los valores de proteínas oxidadas.

### Resultados

**RESULTADOS** La concentración de proteínas totales en el grupo de normales fue de 1,7 mg/ml, mientras que en el grupo con glaucoma fue  $14,1 \pm 1,5$  mg/ mL (VC  $1,5 \pm 0,4$  mg/ mL;  $p < 0,001$ ). La concentración de proteínas oxidadas en el grupo de normales fue de 0,099 nmoles/mg de prot., mientras que en el grupo con glaucoma fue  $0,145 \pm 0,010$  nmoles/ mg de proteína (VC  $0,096 \pm 0,001$  nmoles/ mg de proteína;  $p < 0,05$ ).

	Grupo "normales"	Grupo "glaucoma"
Proteinas totales	1,7 mg/ml	14,1 mg/ml
Proteinas oxidadas	0,099 nmoles/mg	0,145nmoles/mg

**DISCUSIÓN** El efecto oxidante sobre la retina y los axones del nervio óptico es uno de los motivos trascendentales del deterioro de la función neurológica de los pacientes con glaucoma. El presente estudio permite concluir que en los vítreos de pacientes con glaucoma primario incluidos en este trabajo, las proteínas totales y oxidadas se encuentran aumentadas comparado con los controles. Esto permite inferir que el poder antioxidante del humor vítreo se encuentra alterado en los pacientes con glaucoma primario, permitiendo abrir el campo de la investigación de terapias antioxidantes como adyuvantes de las terapias antiglaucomatosas convencionales.