

ISSN 1669-5402 (Print)

ISSN 1669-5410 (Online)



*Physiological  
Mini-  
Reviews*

The central graphic features the title 'Physiological Mini-Reviews' in a gold, cursive font. The text is framed by a thin, curved gold line above and below. On either side of the text is a glowing, blue, spherical molecular structure with four bright orange-yellow spots, resembling a protein or a cluster of atoms. The entire graphic is set against a light blue, circular glow.

*Edited by the Argentine Physiological Society.*

*Especial Issue:  
Vol. 5, N° 1, January - February 2010.*

<http://www.mini.reviews.safisiol.org.ar>

# Physiological Mini-Reviews

[ISSN 1669-5402 (Print); ISSN 1669-5410 (Online)]

Edited by the Argentine Physiological Society

Journal address: Centro de Investigaciones Cardiovasculares y Cátedra de Fisiología y Física Biológica. Facultad de Medicina; Universidad de La Plata; La Plata, Argentina. Tel.-Fax: (54) (0)211 4834833  
<http://www.mini.reviews.safisiol.org.ar>

---

Physiological Mini-Reviews is a scientific journal, publishing brief reviews on "hot" topics in Physiology. The scope is quite broad, going from "Molecular Physiology" to "Integrated Physiological Systems". As indicated by our title it is not our intention to publish exhaustive and complete reviews. We ask to the authors concise and updated descriptions of the "state of the art" in a specific topic. Innovative and thought-provoking ideas are welcome.

---

## Editorial Board:

Eduardo Arzt, Buenos Aires, Argentina.  
Oscar Candia, New York, United States.  
Daniel Cardinali, Buenos Aires, Argentina.  
Hugo Carrer, Córdoba, Argentina.  
Marcelino Cerejido, México City, México.  
Horacio Cingolani, La Plata, Argentina.

Adolfo De Bold, Ottawa, Canada.  
Osvaldo Delbono, Salem, United States.  
Cecilia Hidalgo, Santiago, Chile.  
Carlos Libertun, Buenos Aires, Argentina.  
Gerhard Malnic, Sao Paulo, Brasil.  
Raúl Marinelli, Rosario, Argentina.  
Juan Saavedra, Bethesda, United States.  
David Sabatini, New York, United States.

**Editor in Chief:** María Inés Vaccaro, Buenos Aires, Argentina

**Founding Editor:** Mario Parisi, Buenos Aires, Argentina

---

**Annual suscriptions rates are** (see the electronic version for payment instructions):

- a) Printed (Institutions): 120 U\$S (Air mail.)
  - b) Printed (Individuals): 100 U\$S (Air mail. Including Safis Annual fee.)
  - c) Electronic (Individuals-.PDF): 30 U\$S (Including Safis Annual fee.)
  - d) Electronic (Institutions-.PDF): 50 U\$S
- 

## Preparation and Submission of manuscripts:

"Physiological Mini-Reviews" will have a maximum of 2500 words, 30 references and 4 figures. Material will be addressed to scientific people in general but not restricted to specialist of the field. For citations in the text and reference list see Cerejido et al. Vol 1, N° 1. Final format will be given at the Editorial Office. Most contributions will be invited ones, but spontaneous presentations are welcome. Send your manuscript in Word format (.doc) to: [mini-reviews@safisiol.org.ar](mailto:mini-reviews@safisiol.org.ar)

---

## Advertising:

For details, rates and specifications contact the Managing Editor at the Journal address e-mail: [mini-reviews@safisiol.org.ar](mailto:mini-reviews@safisiol.org.ar)

---

The "Sociedad Argentina de Fisiología" is a registered non-profit organization in Argentina.  
(Resol. IGJ 763-04)

# SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

---

## **Comisión Directiva (2009-2010)**

***Presidente:***

Alicia Mattiazzi

***Vicepresidente:***

Raúl Marinelli

***Tesorero:***

Elena Lascano

***Secretario:***

Martín Vila-Petroff

***Vocales:***

Alberto Crottogini

Basilio Kotsias

Ana Franchi

Aldo Mottino

Matilde Said

Cristina Ibarra

Gustavo Rinaldi

Marcelo Vatta

***Órgano Fiscalizador:***

Martín Rodríguez Fermepín

Ruth Rosenstein

***Vocales regionales:***

*Litoral-Noreste:* Cristina Carnovale

*Noroeste:* Alfredo Coviello

***Vocal externos:***

Marcelino Cereijido

Hugo Besedovsky

Ricardo Montoreano

***Editor Physiological Minireviews:***

María Ines Vaccaro

## **AUSPICIOS**

---

- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas
- CCT-CONICET La Plata
- Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires
- Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata
- Universidad Favaloro

## **AGRADECEMOS LA CONTRIBUCIÓN DE**

---

- Agencia de Promoción Científica y Tecnológica
- Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires
- Cosmobio /AD-Instruments
- Bioanalítica Argentina
- Microlat SRL
- Editorial Médica Panamericana
- Chemit SA
- Científica Nacional
- Óptica Bermudez

## **AGRADECEMOS LA COLABORACIÓN DE**

---

- Valeria Casazza
- Rosana Del Cid
- Inés Vera

## **AGRADECEMOS A NUESTROS INVITADOS EXTRANJEROS**

---

Dra. María G. Castro. UCLA, Los Angeles, EE.UU  
Dr. David García Dorado. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España  
Dr. Bjorn Knollmann. Vanderbilt University, Nashville, TN, USA  
Dr. W. Les Dees. Texas A & M University, College Station, TX, USA.  
Dr. Roberto Malinow. University of California, San Diego, USA  
Dr. Akinori Noma. Kyoto University, Kyoto, Japón  
Dra. Marisol Ruiz-Meana. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España

## **AGRADECEMOS A NUESTROS INVITADOS NACIONALES**

---

Dr. Eduardo Artz. UBA, Buenos Aires  
Dra. Maria Luján Alvarez. UNR, Rosario  
Dra. Claudia Capurro. UBA, Buenos Aires  
Dr. Daniel Cardinali. Universidad Católica Argentina, Buenos Aires  
Dra. Cristina E. Carnovale. IFISE, UNR, Rosario  
Dr. Horacio E. Cingolani. UNLP, La Plata  
Dr. Alejandro De Nicola. UBA, Buenos Aires  
Dra. Christianne Dosne Pasqualini. Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires  
Dr. Juan José Gagliardino. UNLP, La Plata  
Dr. Ricardo Gelpi. UBA, Buenos Aires  
Dra. Norma M. Giusto. UNS, Bahía Blanca  
Dr. Diego Golombek. UNQUI, Quilmes  
Dra. Vanesa Gottifredi. Instituto Leloir, Buenos Aires  
Dr. Rodolfo G. Goya. UNLP, La Plata.  
Dra. Isabel Luthy. IBYME-CONICET, Buenos Aires  
Dr. Jorge Negroni. Universidad Favaloro, Buenos Aires  
Dr. Mario Parisi. UBA, Buenos Aires  
Dr. Daniel Pérez Chada. Hospital Universitario Austral, Buenos Aires  
Dra. Claudia Pérez Leiros. FCEN-CONICET, Buenos Aires  
Dra. Silvina Pérez Martínez. CEFYBO-CONICET, Buenos Aires  
Dra. Amira Ponce Zumino. UNC, Mendoza  
Dr. Carlos Rapela. UNLP, CCT-CONICET-La Plata, La Plata  
Dra. Valeria Rettori. UBA, Buenos Aires  
Dra. María Laura Ribeiro. CEFYBO-CONICET, Buenos Aires  
Dra. Marta Rovira. CONICET, Buenos Aires  
Dra. Leticia Vittone. UNLP, La Plata

# PROGRAMA

---

**15 de octubre de 2009**

**8: 30 Hs.** Colocación de posters que permanecerán los dos días.

**9 - 11 Hs. Simposio: Fisiología de los ritmos circadianos: del laboratorio a la clínica**

**Coordinadores:** Dr. Daniel Cardinali (UCA, Ciudad de Bs. As. Argentina)

Dr. Diego Golombek (UNQUI, Quilmes, Argentina)

**Disertantes:**

Dr. Juan José Gagliardino (UNLP, La Plata, Argentina): Variación circadiana del control metabólico.

Dr. Daniel Pérez Chada (Hospital Austral, Ciudad de Bs. As., Argentina): Trabajo en turnos y fatiga.

Dr. Daniel Cardinali (UCA, Ciudad de Bs. As., Argentina): Melatonina y sus análogos como cronobióticos.

Dr. Diego Golombek (UNQUI, Quilmes, Argentina): El sueño es ritmo (y el ritmo, ritmo es).

**11: 30 - 12: 30 Hs. Conferencia**

**Presidente:** Dr. Martín Vila-Petroff (UNLP, La Plata, Argentina)

**Disertante:**

Dr. David García Dorado (Hospital Universitario de Barcelona, España): Conexina 43: localización mitocondrial y papel en el acondicionamiento.

**12: 40 - 14: 30 Hs. Workshop: Modelización en el sistema cardiovascular**

Dr. Akinori Noma (Universidad de Kyoto, Kyoto, Japón).

Dr. Jorge Negroni (Universidad Favaloro, Ciudad de Bs. As., Argentina).

**13: 30 - 14: 30 Hs. Posters moderados**

**14: 40 - 16: 40 Hs. Simposio: Fisiología de la Reproducción**

**Coordinadores:** Dra. Ana Franchi (UBA, Ciudad de Bs. As. Argentina)

Dra. Valeria Rettori (UBA, Ciudad de Bs. As. Argentina)

**Disertantes:**

Dr. W. Les Dees (Texas University, College Station, Tx., EE.UU.): IGF1 and its role on the onset of puberty.

Dra. Silvina Pérez Martínez (UBA, Ciudad de Bs. As. Argentina): Participación de los endocannabinoides en la interacción espermatozoide oviducto.

Dra. María Laura Ribeiro (UBA, Ciudad de Bs. As. Argentina): Mediadores lipídicos involucrados en la implantación.

Dra. Claudia Pérez Leiros (UBA, Ciudad de Bs. As. Argentina): Mecanismos involucrados en el inicio y el mantenimiento de la preñez en condiciones de autoinmunidad.

**17: 00 - 19: 00 Hs. Simposio: Regeneración Tisular y Carcinogénesis: Mecanismos Moleculares y Celulares**

**Coordinadores:** Dra. Cristina E. Carnovale (UNR, Rosario, Argentina)

Dra. Vanesa Gottifredi (Instituto Leloir, Ciudad de Bs. As. Argentina)

**Disertantes:**

Dra. Isabel Luthy (Instituto de Biología y Medicina Experimental. Ciudad de Bs As., Argentina): Acción de los receptores alfa 2-adrenérgicos sobre la proliferación celular y el desarrollo de tumores mamarios.

Dra. Vanesa Gottifredi (Instituto Leloir, Ciudad de Bs. As. Argentina): Nuevos aspectos funcionales de la interacción entre p21 y PCNA y su relevancia en el control de la mutagénesis.

Dra. María de Luján Álvarez (UNR, Rosario, Argentina): Acciones del interferon alfa y del factor de crecimiento transformante beta 1 en preneoplasia hepática.

Dra. Cristina E. Carnovale (UNR, Rosario, Argentina): Rol del óxido nítrico y del estrés oxidativo en el balance entre apoptosis y proliferación celular durante el proceso de regeneración hepática.

**19: 15 Hs.:** Acto inaugural

## 16 de octubre de 2009

### 8: 30 - 10: 30Hs. Simposio: Fisiología y Fisiopatología Cardiovascular

**Coordinadores:** Dr. Ricardo Gelpi (UBA, Ciudad de Bs. As., Argentina)

Dra. Amira Ponce Zumino (UNC, Mendoza, Argentina)

**Disertantes:**

Dr. Bjorn Knollmann (Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN. EE.UU.): Arrhythmia mechanisms in cardiomyopathies caused by troponin T mutations.

Dra. Marisol Ruiz-Meana (Hospital Universitario de Barcelona, España): Interacción mitocondria-retículo sarcoplasmático y muerte celular durante la reperfusión miocárdica.

Dr. Akinori Noma (Universidad de Kyoto, Japón): Ionic mechanisms of cardiac cell swelling induced by blocking Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump as revealed by experiments and simulation.

Dra. Leticia Vittone (UNLP, La Plata, Argentina): Rol de la CaMKII en las arritmias de reperfusión.

### 10: 45 - 11: 15Hs. Asamblea SAFIS

### 11: 30 - 12: 30Hs. Conferencia

**Presidente:** Dra. Claudia Capurro (UBA, Ciudad de Bs As, Argentina)

**Disertante:**

Dr. Mario Parisi (UBA, Ciudad de Bs As., Argentina): Desde los poros de membrana a las aquaporinas: 50 años midiendo flujos de agua.

### 12: 40 - 14: 30Hs. Workshop: Técnicas de simulación para el estudio en Fisiología

A cargo de representantes de **Cosmobio/AD-INSTRUMENT (Sala Planta Baja)**.

**12.: 40- 14: 30hs: Simulación en la enseñanza de la Medicina.** A cargo de la Subcomisión de Innovación Educativa de la Facultad de Ciencias Médicas de La Plata: Dra Margarita A. Salas. (**Sala Planta Alta**).

### 13: 30 - 14: 30 Hs. Posters moderados.

### 14: 30 - 15: 30 Hs. Panel de Discusión: El por qué de la Investigación Básica.

**Presidente:**

**Dra. Marta Rovira** (Conicet, Ciudad de Bs As, Argentina)

**Vice-Presidente**

**Dr. Carlos Rapela** (UNLP, CCT-Conicet La Plata, La Plata, Argentina)

**Panelistas:**

Dr. Eduardo Artz (UBA, Ciudad de Bs As, Argentina)

Dra. Christiane Dosne Pasqualini (Academia de Medicina, Ciudad de Bs As, Argentina)

Dr. Horacio Cingolani (UNLP, La Plata, Argentina).

### 15: 40 - 17: 40 Hs. Simposio: Fisiopatología del Envejecimiento Cerebral

**Coordinadores:** Dr. Rodolfo Goya (UNLP, La Plata, Argentina)

Dr. Alejandro F. De Nicola (UBA, Ciudad de Bs. As. Argentina)

**Disertantes:**

Dr. Daniel Cardinali (UCA, Ciudad de Bs. As., Argentina): Envejecimiento del sueño.

Dra. Alejandro De Nicola (UBA, Ciudad de Bs. As., Argentina): Rol neuroprotector de esteroides en enfermedades asociadas al envejecimiento.

Dra. Norma M. Giusto (UNS, Ciudad de Bahía Blanca, Argentina): Enzimas involucradas en la generación de segundos mensajeros lipídicos en terminales sinápticos de corteza cerebral. Efecto del envejecimiento.

Dra. Maria G. Castro (UCLA, Los Angeles, EE.UU): Cancer and Cellular Aging: Therapeutic Perspectives.

### 17: 45 - 18: 40 Hs: Conferencia de clausura

**Presidente:** Dra. Alicia Mattiazzi (UNLP, La Plata, Argentina).

**Disertante:** Dr. Roberto Malinow (University of California, San Diego, EE. UU): Synaptic dysfunction in neuro-psychiatric diseases.

### 18: 45 Hs. Quinteto de Vientos de La Universidad de La Plata.

### 19: 30 Hs. Entrega de premios.

**Premio SAFIS:** Al mejor póster en investigación.

**Premio María Cristina Camilión de Hurtado** al mejor póster en investigación básica en Cardiología.

# RESÚMENES

## Índice

### CARDIOVASCULAR

1. Becerra R y col. Participación del canal de  $\text{Ca}^{2+}$  receptor de rianodina (RyR2) del retículo sarcoplasmático (RS) cardíaco en el preconditionamiento isquémico (PC).
2. Becerra R y col. Fosforilación de fosfolamban (PLN) en la progresión hacia la hipertrofia (HVI) e insuficiencia cardíaca (IC).
3. Brando V y col. Variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) durante la vigilia y el sueño del gato.
4. Caeiro X. y col. Participación del complemento cromosómico sexual (CCS) en el dimorfismo sexual de la respuesta barorefleja.
5. Caldiz C y col. Aldosterona y producción del anion superóxido en tejido cardíaco de rata.
6. Cerrudo CS y col. Evolución de la hipertrofia cardíaca en modelos combinados de hipertensión arterial renovascular (RV) y Doca-sal (DS): interrelación con el comportamiento hormonal y funcional.
7. Colareda G y col. Comparación mecánico-energética de dos modelos de isquemia-reperusión (I/R) en corazones aislados de rata y de cobayo.
8. Consolini AE y col. Cambios en la  $[\text{Ca}^{2+}]$  mitocondrial (Mit) y citosólico y su costo energético en el miocardio de rata expuesto a cardioplegia de alta  $[\text{K}^+]$ .
9. D'Annunzio V y col. El poscondicionamiento isquémico atenúa la actividad de MMP-2 y reduce el tamaño de infarto en el corazón aislado de conejo.
10. De Giusti VC y col. Anticuerpos funcionales contra el cotransportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  electrogénico: ¿futura herramienta terapéutica?
11. Diez ER y col. Efectos electrofisiológicos de intervenciones aplicadas durante la reperusión: poscondicionamiento isquémico y adenosina.
12. Donato M y col. Rol deletéreo de la quinasa dependiente de calcio-calmodulina (CaMKII) en el atontamiento miocárdico (AM) en conejos.
13. Fritz M y col. Efecto hipotensor de los hidrolizados de amaranto en ratas hipertensas.
14. García MH y col. Contracción inducida por calcio en arteria umbilical humana perfundida: estudio mecánico y fluorométrico.
15. Lezcano N y col. Efectos de la administración crónica de microcistina sobre el grado de apoptosis en diferentes tejidos.
16. Locatelli P y col. Modelización de la insuficiencia cardíaca en mamíferos grandes: dilatación ventricular post-infarto agudo de miocardio versus miocardiopatía tóxica por doxorubicina.
17. Mayer M y col. Interacción entre insulina y angiotensina II en el control central de la presión arterial.
18. Matorra LF y col. Evaluación de la mortalidad en ratones transgénicos con sobreexpresión cardíaca del receptor AT1 de Angiotensina II completo y mutado.
19. Migliaro E y col. Las modificaciones respiratorias en las dimensiones y presión de la aurícula derecha (DAD y PAD) regulan el ritmo cardíaco (RC) en ovejas sin control autónomo.
20. Migliaro E y col. Nuevos métodos para evaluar la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC).
21. Negroni JA y col. Despolarizaciones espontáneas (DEs) inducidas por acidosis usando un modelo matemático de miocito humano. Rol de la CaMKII.
22. Orłowski A y col. Interacción física y funcional de la anhidrasa carbónica con la isoforma electrogénica NBC1 del cotransportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  cardíaco.
23. Ragone MI y Consolini A. Evidencias mecánico-energéticas del rol mitocondrial en la cardioprotección (CP) cardiopléjica de rata.
24. Reyes Toso CF y col. Efectos del tratamiento con vitamina E y ácido lipoico sobre el síndrome metabólico por ingestión de fructosa en las ratas.
25. Roldán Palomo AR y col. Efecto del estiramiento sobre el desarrollo de fuerza en la arteria umbilical: rol del calcio extracelular.
26. Said M y col. Participación del retículo sarcoplasmático (RS) y la proteína quinasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  y calmodulina (CaMKII) en las arritmias miocárdicas de reperusión.
27. Salas MA y col. Muerte celular mediada por la quinasa  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulina II (CaMKII) en el daño por isquemia/ reperusión (I/R).
28. Valls G y col. Cambios biomecánicos diferenciales de arterias elásticas, transicionales y musculares al ejercicio ergométrico máximo realizado por jóvenes sanos.
29. Valverde CA y col. Liberación transitoria de  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo sarcoplasmático al inicio de la reperusión.
30. Vasti C y col. Rol del receptor tirosina quinasa erbB2 en la cardiomiopatía hipertrófica dilatada.
31. Velez Rueda O y col. Nueva vía apoptótica inducida por estrés oxidativo. Reajuste de la dependencia del  $\text{Ca}^{2+}$  de la CaMKII.



32. Villa. Abrille MC y col. El efecto Anrep post-estiramiento del miocardio requiere transactivación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (RFCE).

33. Yeves A y col. La disminución de la actividad del NHE-1 por inhibición de la PDE5A se debe al aumento de la actividad de la Proteína Fosfatasa 1 (PP1).

## **ELECTROFISIOLOGÍA**

1. Enrique N y col. Intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  en la arteria umbilical humana: caracterización de sus corrientes iónicas mediante la técnica de patch-clamp.

2. Marino GI y col. Corrientes aniónicas en una línea celular derivada de trofoblasto humano (BeWo).

3. Martín P y col. Caracterización del canal de  $\text{K}^+$  de tipo TREK-1 de la familia de canales de background K2P en la arteria umbilical humana (AUH).

## **ENDOCRINO**

1. Barreiro A y col. Modulación de la activación de células T por hormonas tiroideas (HT) a través de la regulación de la isoforma  $\alpha$  de su receptor ( $\text{TR}\alpha$ ).

2. Borelli MI y col. Efecto de la NADPHoxidasas sobre el mecanismo de regulación de la secreción de insulina inducida por diferentes estímulos.

3. Castro MC y col. Papel regulador de las proteínas desacoplantes mitocondriales (UCP) en la adaptación metabólica hepática frente a una dieta rica en fructosa (DRF).

4. Flores LE y col. Efecto modulador del sistema endocanabinoide sobre la función celular  $\beta$ .

5. Francés D y col. Radical hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ) inducido por hiperglicemia conduce a apoptosis hepática. Nuevo efecto de insulina.

6. Madrid V y col. Ontogenia de las células INGAP positivas: Relación con la masa  $\beta$ .

7. Maiztegui B y col. Efecto de Sitagliptina y Exendina-4 sobre la función insular en ratas con insulinoresistencia inducida por fructosa.

8. Raschia MA y col. Análisis de la expresión de INGAP y  $\text{REG3}\beta$ , dos miembros de la familia de proteínas Reg.

9. Rubinstein MR y col. Efecto del estrés en la respuesta inmune en animales diabéticos. Correlación con la glucemia, corticosterona y catecolaminas.

## **ENSEÑANZA DE LA FISIOLÓGÍA**

1. Giuliodori MJ y col. Efectos de la discusión en la instrucción por pares.

## **ESTRÉS OXIDATIVO**

1. Astiz M y col. Efecto de agroquímicos sobre la supervivencia celular en tejidos de rata.

## **METABOLISMO LIPÍDICO**

1. García BN y col. Perfil de lípidos séricos en ratones con y sin exceso de hierro.

2. García ME y col. Alteraciones del estado glicoxidativo y perfil lipídico en dieta rica en fructosa.

3. Layerenza JP y col. Los lípidos neutros nucleares se concentran en dominios funcionales específicos.

4. Polo M y col. Acción antiproliferativa y hipocolesterolemia de un monoterpeno.

## **NERVIOSO**

1. Abramoff T y col. Asimetría en la modulación de la transmisión noradrenérgica por endotelinas exógenas en el hipotálamo anterior de ratas DOCA-Sal.

2. Arnal N y col. Neurodegeneración y proteínas involucradas en la homeostasis del cobre.

3. Dalmaso C y col. Modulación estrogénica de los receptores angiotensinérgicos  $\text{AT1}$  ( $\text{AT1-R}$ ) en respuesta a una depleción aguda de agua y sodio corporal.

4. Hope SI y col. Mecanismos involucrados en la modulación de la captación de Noradrenalina (NA) por Endotelina1 (ET1) en el hipotálamo Anterior (HA).

5. Nabhen S y col. Papel del Calcio en los efectos a largo plazo de las Endotelinas (ETs) sobre la actividad de la Tirosina Hidroxilasa (TH) en Bulbo Olfatorio (BO) de rata.

6. Pascovich C y col. La hormona concentradora de melanina disminuye la actividad de las neuronas del núcleo dorsal del rafe.

7. Vigo DE y col. Relación entre el tiempo de reacción psicomotora y la actividad autonómica cardíaca en distintos turnos de trabajo.

8. Zacharewicz L y col. Estudio preliminar del efecto de una dosis única de melatonina sobre regímenes estándar de anestesia en ratas.

## REPRODUCCIÓN

1. Aisemberg J y col. Protección de la progesterona (P) sobre la reabsorción embrionaria (RE) inducida por lipopolisacárido (LPS). Participación del LIF y la glicodelina (Gd).
2. Cardoso N y col. Diferencia sexual en los efectos de la administración aguda de bisfenol A.
3. Dietrich V y col. La hiperinsulinemia puede alterar la expresión de Caveolina-1 en placentas preeclámpticas.
4. Gervasi MG y col. Participación de los endocannabinoides en la interacción espermatozoide-oviducto.
5. Gervasi MG y col. Caracterización de la Frecuencia de Batido Ciliar (FBC) del epitelio oviductal bovino: posible regulación por anandamida.
6. Grasseti M y col. Anandamida modula el sistema prostanoides en placenta humana.
7. Reza A y col. Cambios en la composición lipídica de la membrana del sincitiotrofoblasto mediados por insulina.
8. Sordelli MS y col. Mediadores lipídicos involucrados en la implantación.

## SANGRE E INMUNIDAD

1. Giambelluca MS y Gende OA. Caracterización del intercambio  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  en neutrófilos humanos.
2. Martínez MP y col. Secreción hipoxia-dependiente de eritropoyetina en ratones policitémicos: el enigma posthipóxico.
3. Spengler MI y col. Rol de factores celulares sobre agregación eritrocitaria en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES).

## SISTEMA ÓSEO Y METABOLISMO MINERAL

1. Arnol V y col. Efectos in vitro e in vivo de la Metformina sobre la actividad osteoclastica.
2. Bozzini C. y col. Respuesta biomecánica femoral a distintas concentraciones de proteína dietaria.
3. Dmytrenko G. y col. Efecto de la hipoxia sobre las propiedades biomecánicas del tejido óseo mandibular y femoral de la rata prepúber intoxicada con aluminio.
4. Gangoiti MV y col. Desarrollo de osteoclastos en cultivo: efectos de productos de glicación avanzada y bisfosfonatos.
5. Lezón Ch y col. Eficacia intrínseca diferencial del propranolol en la competencia mecánica del fémur en un modelo animal de desnutrición armónica.

## SISTEMA RENAL

1. Albertoni Borghese MS y col. El NO aumenta la activación del promotor de acuaporina-2 mediada por NFATc.
2. Cao G y col. La dieta hipersódica induce la expresión de marcadores de hipoxia y fibrosis renal en ratas normales, asociada al estrés oxidativo.
3. Cao G y col. La inhibición del estrés oxidativo es más eficaz que el bloqueo AT1 para prevenir la respuesta inflamatoria renal a una sobrecarga aguda de sodio.
4. D'Anna MC y col. Respuesta a la hipoxia mediada por hepcidina de ferroportina duodenal y renal.
5. Lee BM y col. La ANG II regula la síntesis, captación y el catabolismo renal de la dopamina: Su incidencia sobre la actividad  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPásica renal.
6. Marañón R y col. Función renal en ratas hipertensas inducida por L-NAME. Rol del Oxido Nítrico.
7. Molinas SM y col. Expresión de Aquaporina-8 mitocondrial (AQP8mt) del túbulo proximal renal en un modelo de acidosis metabólica en rata.
8. Soria LR y col. Permeabilidad al amoníaco de la aquaporina-8 de rata (rAQP8) expresada en mitocondrias de levadura.

## GLÁNDULAS EXÓCRINAS

1. Egido P y col. Cinética de la actividad NTPDásica presente en microsomas de glándula submaxilar de rata.

## CARDIOVASCULAR

### C1. Participación del canal de Ca<sup>2+</sup> receptor de rianodina (RyR2) del retículo sarcoplasmático (RS) cardíaco en el preconditionamiento isquémico (PC).

<sup>1</sup>Becerra R, <sup>1</sup>Said M, <sup>2</sup>Sánchez G, <sup>2</sup>Donoso P, <sup>1</sup>Mundiña-Weilenmann C, <sup>1</sup>Mattiazzi A, <sup>1</sup>Vittone L.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CONICET-LaPlata, UNLP, Argentina, <sup>2</sup>ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

El PC activa mecanismos cardioprotectores que aún no están bien establecidos. Un incremento de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> breve y transitorio, durante el PC se ha propuesto como disparador de la cardioprotección. En este trabajo estudiamos la posibilidad de que el RyR2 esté involucrado en este incremento de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. Corazones perfundidos de rata (Langendorff) fueron sometidos a 5/1min de isquemia/reperfusión, un protocolo que induce PC, donde se midió: "binding" de [3H]-ryanodina, fosforilación de los sitios de RyR2 CaMKII-dependientes, S-glutationilación del RyR2 y actividad de NADPH oxidasa en membranas aisladas de RS de esos corazones. Encontramos un aumento de aproximadamente 100% en la S-glutationilación del RyR2 en PC comparado con corazones controles(C), sin cambios en la fosforilación del residuo CaMKII-dependiente P<sub>Ser2815</sub> de RyR2. El PC aumentó el "binding" de [3H]-ryanodina desde 0.15 ± 0.03, n=9 (C) a 0.32 ± 0.02, n=7 (PC) pmol/mg proteína y la actividad de NADPH oxidasa desde 2.1 ± 0.8, n=17 (C) a 4.4 ± 2.2, n=6 (PC) nmol O<sub>2</sub>./mg proteína/min. Estos resultados sugieren que el PC aumenta la actividad del RyR2 por modificaciones redox, sin cambios en la fosforilación CaMKII-dependiente del RyR2. Este aumento de la actividad podría explicar el breve y transitorio incremento de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> durante el PC.

PICT 26117- Fondecyt 1080497, 1080481

### C2. Fosforilación de fosfolamban (PLN) en la progresión hacia la hipertrofia (HVI) e insuficiencia cardíaca (IC). Becerra R, Gonulenko R, Said M, Rinaldi G, Mundiña-Weilenmann C, Mattiazzi A, Vittone L. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Medicina, UNLP.

En la progresión hacia HVI e IC alteraciones del simpático pueden modificar la actividad de quinasas (PKA, CaMKII) y la fosforilación y función de proteínas reguladoras del [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, como PLN, SERCA2a y el canal liberador de Ca<sup>2+</sup> (RyR2), del retículo sarcoplasmático. Investigamos si existe una secuencia temporal de estas alteraciones en un modelo de coartación aórtica severa (CS) y moderada (CM) en rata. Determinamos expresión y fosforilación de PLN, SERCA2a, RyR2 y función cardíaca (cateterismo VI) después de 3-5-7 meses de coartación y en Sham. A los 3 meses se deterioró significativamente la función sistólica: la máxima velocidad de desarrollo de presión (mmHg/seg) fue 5.581 ± 416 (Sham), 4.478 ± 228 (CM) y 2.083 ± 365 (CS) (n=7-9). También observamos un efecto antirrelajante, la cte de tiempo de relajación Tau (mseg) aumentó: 8,4 ± 0,8 S, 13,6 ± 1,1 (CM) y 39,7 ± 5 (CS) (n=7-8). Luego de 5 meses estos trastornos funcionales revirtieron. Se detectó HVI a 5 meses en CS 3,33 ± 0,03 (mg/g) vs. 1,99 ± 0,04 Sham (n=5-6) y a 7 meses en CM 2,26 ± 0,04 vs. 2,07 ± 0,01 Sham (n=6-9). La fosforilación PKA-dependiente de PLN en Ser16 aumentó significativamente a 3 meses en CS y 5 meses en CM. No cambió la fosforilación de PLN CaMKII-dependiente ni la expresión de las proteínas estudiadas. La fosforilación de PLN sugiere una liberación de catecolaminas que precede al desarrollo de hipertrofia.

### C3. Variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) durante vigilia y el sueño del gato. Brando V, Maccio M, Gutierrez M, Benedetto L, Torterolo P, Falconi A, Migliaro ER. Depart de Fisiología. Fac Medicina, Univ de la República, Montevideo, Uruguay.

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en el mundo. Muchas de estas patologías se manifiestan durante el sueño que provoca importantes cambios en la fisiología cardiovascular, en general relacionados con la función autonómica. Esta última puede ser valorada a nivel cardíaco mediante la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (VFC), tanto a través de índices estadísticos (media; desvío estandar normal-normal, SDNN; y raíz cuadrada del desvío estandar, rMSSD) como espectrales (bandas de baja frecuencia, LF; y de alta frecuencia, HF) de los intervalos R-R. En el presente trabajo estudiamos la VFC durante el ciclo sueño-vigilia del gato adulto. Los animales (n=3) fueron implantados con electrodos para registros polisomnográficos. Estos se realizaron en sesiones experimentales de 4 horas durante las cuales también se realizó un electrocardiograma.

Los resultados mostraron un aumento significativo del intervalo en sueño REM en comparación con la vigilia. A su vez, el SDNN y el rMSSD aumentan durante el sueño REM en comparación con la vigilia. Por otra parte, la relación HF/LF de la VFC aumento significativamente durante el sueño REM y NREM comparado con la vigilia. Este estudio permite establecer la VFC basal del gato durante los distintos estados comportamentales para futuros estudios fisiológicos y farmacológicos.

### C4. Participación del complemento cromosómico sexual (CCS) en el dimorfismo sexual de la respuesta barorefleja. Caeiro X; Vivas L; Cambiasso MJ. Instituto Fereyra, INIMEC-CONICET. Córdoba, Argentina

Si bien no se puede negar el rol indiscutible de los esteroides gonadales en el dimorfismo sexual, una serie de estudios indican que algunas diferencias descriptas entre machos y hembras podrían atribuirse al CCS. Con el propósito de estudiar el rol del CCS en el dimorfismo sexual de la respuesta barorefleja (RB) empleamos una cepa de ratón transgénico el cual combina una mutación espontánea del gen determinante de testículos (Sry) con la incorporación del mismo en un cromosoma autosómico. Los genotipos resultantes son: hembras XX, hembras XY (sin Sry en el cromosoma Y), machos XXSry y machos XY Sry (ambos con el gen Sry en un cromosoma autosómico). Para evaluar la RB cardíaca, ratones gonadectomizado pertenecientes a los cuatro genotipos fueron infundidos con fenilefrina, FE (1.0 mg/ml) y angiotensina II, Ang II (100 µg/ml). La administración de PE en ratones hembra XY resultó en una sensibilidad barorefleja significativamente menor a la reportada para los otros genotipos. La administración de Ang II produjo, independientemente del fenotipo gonadal, una sensibilidad barorefleja diferente en ratones portadores del CCS XX respecto a la respuesta observada en ratones portadores del CCS XY. Tanto hembras XX como machos XXSry presentaron una sensibilidad barorefleja mayor que hembras XY y machos XY Sry. Estos resultados indican que el CCS afecta la RB inducida por Ang II independientemente del status gonadal.

### C5. Aldosterona y producción del anión superóxido en tejido cardíaco de rata. Caldiz CI, Chiappe de Cingolani GE, Cingolani HE Centro de Investigaciones Cardiovasculares. (UNLP-CCT-La Plata-CONICET).

Se ha observado que en la insuficiencia cardíaca aumentan los niveles de aldosterona (Ald) y la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS),

produciendo ambos efectos deletéreos. En el presente estudio hemos explorado en tejido miocárdico, la posibilidad de que la Ald induzca un aumento de ROS así como los posibles mecanismos involucrados en dicha acción. En cortes de tejido cardíaco del ventrículo izquierdo de rata se determinó la producción del anión superóxido ( $O_2^-$ ) por luminiscencia con lucigenina 5  $\mu\text{mol/L}$ . Los resultados obtenidos en unidades arbitrarias/min./mg. de tejido seco se muestran como porcentaje de la producción control (C) de  $O_2^-$ . La Ald aumentó la producción de  $O_2^-$  con una respuesta dependiente de la dosis de un modo similar a lo observado con los conocidos inductores de la producción de ROS angiotensina II y endotelina-1. La Ald 10 nmol/L aumentó ~ 70% respecto al control, ( $n=15, P<0,05$ ). Este aumento se canceló con el inhibidor de la NAD(P)H oxidasa apocinina (300  $\mu\text{mol/L}, n=6, P<0,05$ ), espirolactona (10  $\mu\text{mol/L}, n=6, P<0,05$ ) y por inhibición del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) con AG 1478 1  $\mu\text{mol/L}$  ( $n=9, P<0,05$ ). Estos resultados nos permiten concluir que la Ald aumenta la producción de  $O_2^-$  por transactivación del EGFR y podemos sugerir que el bloqueo de dicho receptor debiera disminuir la producción nociva de  $O_2^-$ .

**C6. Evolución de la hipertrofia cardíaca (HC) en modelos combinados de hipertensión arterial (HTA) renovascular (RV) y Doca-sal (DS): interrelación con el comportamiento hormonal y funcional.** Cerrudo CS<sup>1</sup>, Rodríguez Fermepein M<sup>1</sup>, Matorra F<sup>2</sup>, Rey Deutsch AC<sup>2</sup>, Tobler S<sup>1</sup>, Saucedo SL<sup>1</sup>, Cavallero S<sup>1</sup>, González GE<sup>2</sup>, Hertig CM<sup>3</sup>, Gelpi RJ<sup>2</sup>, Fernández BE<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Cátedra de Fisiopatología, INFIBIOC, F. de Farmacia y Bioquímica, UBA <sup>2</sup>Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, F. de Medicina, UBA <sup>3</sup>INGEBI-CONICET.

En la evolución de la HTA, la interacción entre sobrecargas de presión y volumen conducen a diferentes patrones de HC y de comportamiento funcional y hormonal del corazón. Para evaluar modificaciones ante cambios del tipo de sobrecarga, analizamos la evolución y relación entre parámetros funcionales *in vivo* (presión arterial media (PAM), presión desarrollada y presión sistólica del VI y su derivada) y hormonales (expresión en VI del ARNm-ANP y ARNm-BNP) en modelos crónicos RV y DS de 6/12 semanas (RV6,DS6,RV12,DS12) y alterando las secuencias de sobrecarga (RV6/DS6, DS6/RV6). El grado de hipertrofia del VI (GHVI) se correlacionó positivamente con la PAM ( $p=0,0113$ ;  $r^2=0,6843$ ). Los parámetros funcionales del VI se correlacionaron con el GHVI en los modelos puros pero no con los parámetros hormonales. El GHVI se correlacionó con la expresión del ARNm-ANP en DS ( $p=0,0336$ ;  $r^2=0,7712$ ) y con el ARNm-BNP en RV ( $p=0,073$ ;  $r^2=0,7162$ ). La función ventricular en los grupos puros, se relaciona más con los perfiles morfológicos que con la evolución de la síntesis de péptidos natriuréticos. Los perfiles morfológicos se relacionarían con la función parácrina del corazón en forma diferencial, prevaleciendo la expresión del ANP en DS y la del BNP en RV. En modelos combinados, se reducen las alteraciones hormonales y morfológicas sin modificarse las producidas en los parámetros funcionales.

**C7. Comparación mecánico-energética de dos modelos de isquemia-reperfusión (I/R) en corazones aislados de rata y de cobayo.** Colareda, G., Ragone, M.I. y Consolini, A.E. Cátedra de Farmacología, Dto. Cs. Biológicas. Facultad de Cs Exactas, UNLP.

Se compararon las respuestas mecánico-calorimétricas de dos modelos de I/R en rata (rt) y cobayo (cb). Se midieron la presión intraventricular máxima desarrollada (P) y diastólica (LVEDP) y el flujo de calor total (Ht) de

los corazones perfundidos con Krebs en un calorímetro a 30°C. Los corazones de rt se estimularon a 1Hz; los de cb latieron espontáneamente. Se expusieron a I/R por: 45min I (rt) y 30min I (cb), y ambos a 45min R. Durante I, P se redujo con diferente  $t_{25\%}$  (min):  $1.1 \pm 0.1$  (rt) y  $3.1 \pm 1.2$  (cb). Ht cayó con similar  $t_{50\%}$  ( $1.1 \pm 0.4$  vs.  $1 \pm 0.3$ ). Al 1min R, P recuperó un  $24 \pm 6\%$  en rt y un  $38 \pm 19\%$  en cb. En R Ht aumentó con  $t_{50\%}$  de  $1.2 \pm 0.4$  (rt) y  $1.7 \pm 0.6$  (cb) (NS). Después de I/R, P recuperó al  $68 \pm 12\%$  (rt) y  $69 \pm 7\%$  (cb). La economía total (Eco= P/Ht) fue menor en cb que en rt en la pre-I ( $1.6 \pm 0.5$  vs.  $6.6 \pm 0.8$ ) y a 45min R se recuperó en rt ( $6.1 \pm 2$ ) pero se redujo en cb ( $0.7 \pm 0.1$ ). La LVEDP aumentó un  $19 \pm 7\%$  (rt) y un  $34 \pm 6\%$  de P (cb) a 5min R. Los resultados sugieren que en el corazón de cobayo: la contractilidad se reduce más lentamente en I y se recupera más rápidamente en R que el de rata; aunque la contractura es mayor, el % de recuperación de P es igual al de rt. La menor economía pre-I se asocia a baja P y similar Ht que la rata. UNLP-X408, X-513

**C8. Cambios en la  $[Ca^{2+}]$  mitocondrial (Mit) y citosólico y su costo energético en el miocardio de rata expuesto a cardioplejia de alta  $[K^+]$ .**

<sup>1</sup>Consolini A, <sup>2</sup>Bonazzola P, <sup>3</sup>Ruiz-Meana M, <sup>3</sup>García-Dorado D. <sup>1</sup>Fac.Cs. Exactas UNLP, <sup>2</sup>Inst. Invest. Cardiológicas UBA-CONICET, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Recerca, Cardiología, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, España.

La cardioplejia-alta  $[K^+]$  (CPG) aumenta el metabolismo basal durante el paro diastólico. En cardiomiocitos de rata estudiamos si la CPG altera las  $[Ca^{2+}]_m$  y  $[Ca^{2+}]_i$  y el  $\Delta\Psi_m$ , y si existe una relación Mit-RS utilizando taspigargina 5  $\mu\text{M}$  (Tpg). Se midieron las fluorescencias relativas (FI) de Rhod-2, Fura-2 y JC-1 en un sistema confocal. La CPG aumentó la FI de Rhod-2 y Fura-2, con caída exponencial ( $t_{1/2}$  (s):  $215.2 \pm 20.4$  y  $91.7 \pm 5.3$ , respect.) sin modificar la FI de JC-1. Tpg en CPG aumentó a  $1.7 \pm 0.3$  la FI de Rhod-2, sin afectar la de Fura-2. Buscando la correlación energética, corazones aislados de rata se perfundieron con CPG en un calorímetro detectando los cambios en flujo de calor (Hr) y presión de reposo (LVEDP). Tpg 1  $\mu\text{M}$  aumentó LVEDP ( $+8.1 \pm 1.4$  mmHg) a los 15min y disminuyó Hr ( $-0.47 \pm 0.08$  mW/g). La adición de 5  $\mu\text{M}$  KB-R7943 elevó más LVEDP ( $+12.62 \pm 2.31$  mmHg) y mantuvo el Hr ( $-0.57 \pm 0.12$  mW/g). Los resultados sugieren que: a) CPG aumenta el  $Ca^{2+}$  citosólico y mitocondrial sin cambios en el  $\Delta\Psi_m$ ; b) parte del  $Ca^{2+}$  mitocondrial es transferido al RS vía SERCA y a los miofilamentos; d) el gasto energético neto reducido sugiere caída de la actividad Mit  $Ca^{2+}$ -dependiente.

UNLP-X513, PIP6024/05.

**C9. El poscondicionamiento isquémico atenúa la actividad de MMP-2 y reduce el tamaño de infarto en el corazón aislado de conejo.** D'Annunzio V, Buccholz B, Mikszkovicz V, Quiroga A, Lorenzo Carrión C, Berg G, Gelpi R.J. Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Facultad de Medicina, UBA.

Las metaloproteasas de la matriz (MMP) son gelatinasas que han sido involucradas en el daño por isquemia/reperfusión. Sin embargo, no es conocido el efecto del poscondicionamiento (Pos-con) sobre la actividad de MMP-2. Objetivo: Evaluar el efecto del Pos-con sobre la actividad de MMP-2 y su relación con el tamaño de infarto. Se utilizaron corazones aislados de conejos sometidos a 30 min de isquemia global seguida de 120 min de reperfusión (R) (Grupo 1: G1). En el grupo 2 (G2) se repitió G1 pero se realizó al inicio de la R dos ciclos de reperfusión/isquemia (30 seg cada uno, Pos-con). En el grupo 3 (G3), se repitió G1, pero durante los

primeros 2 min de la R se administró doxiciclina. Se tomaron muestras de efluente coronario para medir actividad de MMP-2 en situación basal y a los 2, 5 y 30 min de la R. Se midió el tamaño de infarto utilizando trifenil tetrazolium. El infarto fue de  $16.2 \pm 1.2$  en G1 y se redujo a  $5.6 \pm 0.9$  y  $4.9 \pm 0.9$  en G2 y G3, respectivamente ( $p < 0.05$ ). El pos-con disminuyó significativamente la actividad de MMP-2 a los 2 min ( $G1 = 88.2 \pm 12$ ,  $G2 = 38.2 \pm 8$ ,  $p < 0.05$ ); y a los 5 min de R ( $G1 = 63.7 \pm 13$ ,  $G2 = 27.3 \pm 10^*$ ,  $p < 0.05$ ). La administración de doxiciclina abolió completamente la actividad de MMP-2. Conclusiones: El Pos-con reduce el tamaño de infarto y atenúa la actividad de MMP-2, durante la reperfusión. Nuestros datos sugieren que la MMP-2 podría estar involucrada en el mecanismo de protección del Pos-con

**C10. Anticuerpos funcionales contra el cotransportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  electrogénico: ¿futura herramienta terapéutica?** De Giusti VC, Villa-Abrille MC, Chiappe de Cingolani GE, Alvarez BV, Aiello EA. Centro de Investigaciones cardiovasculares. CCT-CONICET La Plata. UNLP.

El cotransportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  (NBC) regula el pH intracelular ( $\text{pH}_i$ ). En el corazón existen dos isoformas del NBC, una electroneutra (NBC3) y otra electrogénica (NBC1). En el presente trabajo generamos anticuerpos moduladores de función (Ac) dirigidos contra los dominios extracelulares 3 (Acd3) y 4 (Acd4) del NBC1 cardíaco. Se utilizaron miocitos ventriculares de gato. Los Ac reconocieron al NBC1 por W-B y en preparados inmuno-histoquímicos (microscopía confocal). La actividad total del NBC se estudió por epifluorescencia realizando pulsos de amonio (se calcula el flujo de  $\text{H}^+$  ( $J_H$ , mM/min) a  $\text{pH}_i$  6.8 tras inducir una acidosis) y la específica del NBC1 mediante una despolarización celular (pulsos de  $\text{K}^+$ ,  $\text{pH}_i$ ). El pulso de  $\text{K}^+$  generó un aumento de  $\text{pH}_i$  de  $0.18 \pm 0.006$  ( $n=5$ ) que fue abolido con el Acd3 ( $0.016 \pm 0.019$ ;  $n=5$ ,  $p < 0.05$ ). Este Ac disminuyó un 50% el  $J_H$  ( $0.59 \pm 0.08$  vs  $1.32 \pm 0.19$ ;  $n=5$ ,  $p < 0.05$ ). Sorpresivamente, el Acd4 generó un aumento del  $\text{pH}_i$  en los pulsos de  $\text{K}^+$  de  $0.25 \pm 0.018$  ( $n=6$ ,  $p < 0.05$ ) y un  $J_H$  de  $2.27 \pm 0.29$  ( $n=6$ ,  $p < 0.05$ ), ambos mayores al control. Concluimos que ambos Ac son capaces de reconocer al NBC1, pero que son funcionalmente opuestos: el Acd3 es inhibitorio y el Acd4 excitatorio. El empleo de estos anticuerpos es relevante para el estudio selectivo del NBC1 en la fisiopatología cardíaca y abre un camino para su potencial uso como herramienta terapéutica.

**C11. Efectos electrofisiológicos de intervenciones aplicadas durante la reperfusión: poscondicionamiento isquémico (PCI) y adenosina.** Diez ER, Ponce Zumino AZ, Miatello RM Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo CONICET.

El objetivo fue estudiar los efectos del (PCI) y de adenosina en los primeros minutos de la reperfusión sobre la morfología del potencial de acción (PA) y las arritmias de reperfusión (AR). Ambas estrategias son cardioprotectoras contra la injuria por isquemia/reperfusión, pero se desconoce su rol sobre las variables electrofisiológicas. Corazones aislados de rata, perfundidos con solución de Krebs-Henseleit (KH), fueron sometidos a 10min de isquemia regional. En los primeros tres minutos de la reperfusión, se agregó adenosina  $10 \mu\text{M}$  (Ado10,  $n=10$ ),  $100 \mu\text{M}$  (Ado100,  $n=9$ ) o se realizó PCI mediante tres ciclos de 30seg de reperfusión y 30seg de isquemia ( $n=11$ ) y se comparó contra reperfusión control (C,  $n=13$ ). Los promedios fueron analizados estadísticamente por ANOVAI y las AR mediante  $\chi^2$ . Ado100 fue la única intervención que disminuyó la incidencia de las AR (3 de 9), lo que al ser

comparado con C (11 de 13) mostró una  $p < 0.01$ . Esto se asoció a una disminución de la frecuencia cardíaca (de  $298 \pm 22$  a  $80 \pm 23$  lat/min) y a un acortamiento del PA (de  $50.8 \pm 6.2$  a  $17 \pm 3.3$ ms) en la reperfusión (ambas  $p < 0.05$ ). El PCI revirtió 5 de 9 corazones que hicieron arritmias ( $p < 0.05$ ) comparado contra C donde sólo lo hizo 1 de 11. El PCI retrasó la generación del PA  $12.6 \pm 1.7$ ms ( $p < 0.05$ ). La cardioprotección de Ado100 se explicaría por los cambios electrofisiológicos antes descriptos, mientras que la mayor reversión observada mediante el PCI podría atribuirse a su efecto sobre el pH descripto por otros autores.

**C12. Rol deletéreo de la quinasa dependiente de calcio-calmodulina (CaMKII) en el atontamiento miocárdico (AM) en conejos.** Donato M, Mundiña-Weilenmann C, Gelpi RJ, Mattiazzi A. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CONICET-UNLP. Instituto de Fisiopatología Cardiovascular. UBA.

En experimentos previos describimos el rol beneficioso de las fosforilaciones dependientes de CaMKII, específicamente del sitio Thr<sup>17</sup> de fosfolamban (PLN), proteína reguladora del secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$  por la Ca-ATPasa del RS, sobre la recuperación del  $\text{Ca}^{2+}_i$  y la contractilidad en el AM en roedores. Mamíferos más grandes pueden darnos una información más relevante sobre los mecanismos del AM, ya que el manejo del  $\text{Ca}^{2+}_i$  en estos animales es similar al del miocardio humano. Se estudió el rol de la CaMKII en el AM en corazones perfundidos conejo (Langerdorff), sometidos a isquemia/reperfusión (15/30min). La contractilidad durante la reperfusión (R), fue significativamente menor respecto a los valores pre-isquémicos (PI) (Presión desarrollada,  $56.7 \pm 3.6$  (R 30min) vs  $86.6 \pm 3.8$  (PI) mmHg,  $n=5$ ). La fosforilación del sitio Thr<sup>17</sup> de PLN aumentó significativamente al minuto de R ( $159 \pm 32.9\%$  del control,  $n=6$ ), evidenciando un aumento en la actividad de CaMKII. La inhibición de CaMKII (KN-93), aumentó significativamente la recuperación mecánica durante R con respecto a los corazones no tratados. La mayor diferencia ocurrió al minuto 15 de R:  $74.8 \pm 10.3$  vs.  $50.5 \pm 3.8$ ,  $n=4-5$ . Conclusiones: A diferencia de lo que sucede en roedores, la actividad de CaMKII resulta perjudicial para la recuperación del corazón atontado de conejo, especie en la que el manejo de  $\text{Ca}^{2+}_i$  es similar al del corazón humano.

**C13. Efecto hipotensor de los hidrolizados de amaranto en ratas SHR.** Fritz M, Vecchi B, Condés MC, Añón MC, Rinaldi G. CIC-CIDCA- UNLP

En hidrolizados proteicos de amaranto (HPA) determinamos actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y el efecto sobre presión arterial media (PAM) en ratas SHR conscientes. Con grados de hidrólisis de 45 y 65% los HPA inhibieron la ECA "in Vitro" en aproximadamente 80%. En SHR los HPA descendieron significativamente la PAM desde  $148 \pm 4$  a  $115 \pm 4.5$  mmHg con una concentración de  $1\text{g/Kg}$  y desde  $147 \pm 5$  a  $91 \pm 6$  mmHg para una concentración de  $1.5 \text{g/Kg}$ . En anillos de aorta (AA) aislados, los HPA produjeron disminución de la respuesta máxima a la noradrenalina ( $0,01 \text{mM}$ ), así como aumento significativo de la  $\text{EC}_{50}$ . En músculos papilares (MP) de SHR los HPA deprimieron no significativamente la contracción y la ( $dF/dt$ ). En ratas SHR anestesiadas los HPA ( $1,5\text{g/Kg}$ ) produjeron un discreto pero significativo aumento del VM de un 7% con respecto al valor basal. Concluimos que los HPA inhibieron la ECA "in vitro" y su administración intragástrica directa disminuyó la PAM en SHR. Los efectos inhibitorios sobre la ECA pueden llevarse a cabo sobre el sistema renina-angiotensina circulante y también local como lo demuestran los experimentos "in vitro". El

intenso efecto vasodilatador de los HPA sobre AA unido al efecto discreto o nulo sobre MP y VM sugiere que el efecto hipotensor "in vivo" se debería a la acción sobre la resistencia periférica.

**C14. Contracción inducida por calcio en arteria umbilical humana perfundida: estudio mecánico y fluorométrico.** García MH, Egido P, Gonzalez DA. Cátedra de Biofísica. Facultad de Odontología. UBA.

Hemos observado que las arterias de los cordones umbilicales transportados en solución con calcio, presentan al ser perfundidas con la misma solución, una elevada resistencia que disminuye dentro de las tres horas hasta alcanzar un valor estable. En cambio, si estos cordones se transportan en solución libre de calcio, se alcanzan desde un comienzo valores de resistencias muy pequeños. En esta última condición, hemos registrado que el agregado de calcio (1.6 mM) trae aparejada una contracción fuerte y sostenida. Con el fin de investigar esta contracción, hemos adaptado la técnica de perfusión a los límites de una cubeta, para poder así medir la señal de calcio intracelular por fluorometría, utilizando para ello el indicador fluo-3. Con esta técnica hemos podido registrar medidas simultáneas de calcio intracelular y resistencia arterial. Se presentan aquí los primeros resultados y controles.

Ya que la contracción inducida por calcio muestra similitud con la paradoja del calcio observada en músculo cardíaco, se discuten los posibles mecanismos que pueden llevar a un aumento desordenado del Ca citoplasmático cuando se lo restituye en la solución de perfusión: sobrecarga de sodio a través de canales no específicos (NSCC); participación del intercambiador sodio-calcio; salida de calcio desde el retículo sarcoplásmico, ingreso de calcio a través de canales sensibles al llenado del retículo (SOCS).

Agradecimientos: Al Dr Evaristo Cruz Molina y a Beatriz Estela Vazquez

**C15. Efectos de la administración crónica de microcistina sobre el grado de apoptosis en diferentes tejidos.** Lezcano N, Sedán D\*, Andrinolo D\*, Mundiña-Weilenmann C. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas y \*Cátedra de Toxicología y Química Legal, Facultad de Ciencias Exactas. UNLP, La Plata, Argentina.

La microcistina-LR (MC-LR) es una toxina que se encuentra en agua de consumo humano. La intoxicación con bajas dosis tiene un efecto crónico y acumulativo a nivel hepático. MC-LR es un potente inhibidor de fosfatasa y aumenta el estado de fosforilación de proteínas involucradas en diversas rutas metabólicas incluídas las que conducen a la apoptosis. Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de la administración crónica de MC-LR sobre la fosforilación de proteínas involucradas en la transducción de señales y el grado de apoptosis en distintos tejidos. Para ello se inyectaron intraperitonealmente ratones con 25 g/K MC-LR. Al mes, se sacrificaron para determinar la fosforilación de CaMKII y ERK1/2 y la relación Bcl-2/BAX, como índice apoptótico, en homogenatos de hígado, riñón y corazón. En hígado, MC-LR aumentó la fosforilación de CaMKII y ERK1/2 y disminuyó Bcl-2/BAX ( $0.91 \pm 0.08$  vs  $3.15 \pm 0.55$  control,  $n=4$ ,  $p<0.05$ ). En riñón y corazón, estos efectos no se observaron. La exposición directa de cardiomiocitos aislados a MC-LR provocó un aumento significativo en la fosforilación de CaMKII y ERK1/2, sin aumento en la apoptosis. Los resultados muestran que la administración crónica de MC-LR provoca efectos deletéreos sólo en hígado sin afectar otros órganos y que en forma directa, MC-LR puede ser utilizada como herramienta para estudiar el rol de las fosfatasa.

**C16. Modelización de la insuficiencia cardíaca en mamíferos grandes: dilatación ventricular post-infarto agudo de miocardio versus miocardiopatía tóxica por doxorubicina.** Locatelli P, Olea FD, Mendiz O, Salmo F, Fazzi L, Hnatiuk A, Cabeza Meckert P, Laguens R, Crottogini A. Universidad Favaloro, Buenos Aires

Las investigaciones sobre regeneración miocárdica (células madre, terapia génica) requieren de modelos de miocardiopatía dilatada (MD) e insuficiencia cardíaca (IC) en mamíferos grandes. De éstos, la oveja posee la ventaja de que sus miocardiocitos son similares a los humanos. Nuestro objetivo fue comparar la evolución ecocardiográfica de parámetros de remodelamiento [volumen de fin de diástole (VFD) y sístole (VFS)] y de deterioro inotrópico [fracción de eyección (FE), engrosamiento parietal sistólico porcentual (EPS)] del ventrículo izquierdo en ovejas sometidas a infarto agudo de miocardio anterolateral extenso por ligadura coronaria (IAM,  $n=6$ ) o a 4 sesiones quincenales de infusión intracoronaria de 1 mg/kg de doxorubicina (DOXO,  $n=6$ ). Ambos modelos desarrollaron en  $10,2 \pm 1$  semanas aumento del VFD (IAM: de  $31,7$  a  $77,4$  ml,  $p<0,003$ ,  $X \pm DS$ , t-test apareado; DOXO: de  $35,9 \pm 4,4$  a  $58,5 \pm 11,7$ ,  $p=0,06$ ) y VFS (IAM: de  $14,4 \pm 4$  a  $42 \pm 11,7$  ml,  $p<0,002$ ; DOXO: de  $14,7 \pm 2,1$  a  $41 \pm 7$ ,  $p<0,02$ ). Sin embargo, al final del estudio DOXO tuvo, respecto de IAM, menor FE (DOXO:  $29,4 \pm 6,6\%$ ; IAM:  $46 \pm 6,3\%$ ,  $p<0,02$ , t-test no apareado) y menor EPS (DOXO:  $19,2 \pm 10,8\%$ ; IAM:  $47,7 \pm 15,5\%$ ,  $p<0,04$ ), indicando mayor deterioro contráctil. Conclusión: ambos modelos desarrollan MD, pero DOXO desarrolla IC más severa.

**C17. Interacción entre insulina y angiotensina II en el control central de la presión arterial** Mayer, MA, Giani, J, Höcht, C, Dominici, F, Silberman, E, Opezzo, J, Gironacci, M, Taira, CA, Fernández, BE y Puyó, AM. FFYB, UBA.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar si la insulina modula la respuesta presora de la administración central de angiotensina II (AngII) y los posibles mecanismos moleculares que participan en esta interacción. Se infundió INS (12mU/h,  $n=15$ ) o solución Ringer (SR) ( $n=15$ ) por vía intracerebroventricular (icv) en ratas Sprague Dawley anestesiadas. Se administró icv una dosis subpresora de Ang II (5pmol,  $n=10$ ) o SR ( $n=5$ ) evaluándose la respuesta sobre la presión arterial media (PAM). Se removió el hipotálamo para la determinación de la fosforilación de Akt y ERK1/2. En otro experimento, se evaluó la respuesta presora a Ang II en ratas pretratadas con PD98059 (inhibidor MAPK) ( $n=6$ ) o vehículo ( $n=6$ ). INS no modificó la PAM en ratas normotensas. Mientras que la AngII presentó efecto neutro sobre PAM en ratas pretratadas con SR (DPAM:  $1,1 \pm 0,9$  mmHg), incrementó la PAM en ratas perfundidas con insulina (DPAM:  $6,2 \pm 1,3$ mmHg,  $p<0,05$ ). Insulina, pero no AngII, incrementó de manera significativa la fosforilación de Akt. Tanto insulina como AngII duplicaron la expresión de fosfo-ERK1/2, observándose un incremento en 4,5 veces en animales tratados con insulina+AngII. La administración icv de PD98059, pero no de vehículo, previno completamente la respuesta presora de AngII (PD98059 previo: DPAM:  $-1,2 \pm 1,2$ mmHg,  $p<0,05$ ) en ratas pretradas con INS. En conclusión, insulina potencia la respuesta presora central de AngII por un mecanismo que involucraría al menos en parte la fosforilación de MAPK.

**C18. Evaluación de la mortalidad en ratones con sobreexpresión del receptor at1 de angiotensina II completo y mutado.** Matorra LF<sup>1</sup>, Rey Deutsch A<sup>1</sup>, Casanova V<sup>2</sup>, Cicale E<sup>2</sup>, Lightowler C<sup>1</sup>, Pidal G<sup>1</sup>, Morales

C<sup>1</sup>, Basso N<sup>1</sup>, Gelpi RJ<sup>1</sup>. 1: Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, 2: Facultad de Veterinaria. Universidad de Buenos Aires.

La mayor activación del receptor AT1 (RAT1) y su sobreexpresión cardíaca incrementa la mortalidad. Sin embargo, no se conocen las señales involucradas. Objetivo: Determinar si la sobreexpresión del RAT1 asociado a desacople de la proteína G modifica la mortalidad temprana. Se utilizaron ratones no transgénicos (G1); ratones con sobreexpresión cardíaca del RAT1 (G2); ratones con sobreexpresión del RAT1 con una mutación que desacopla la proteína G (G3). Se construyeron curvas de Kaplan Meier en G1, n= 92, G2, n=144, y G3, n=30; y se realizó electrocardiograma y autopsia. En G2 la mortalidad fue del 40% (p<0,05 vs G1 y G3). La frecuencia cardíaca fue de 492 ± 29 l/min (G1), 300 ± 24 l/min (G2) (p<0,05 vs G1) y 185 ± 5 l/min (G3) (p<0,05 vs G1 y G2). El segmento PQ fue 44 ± 3 mseg (G1), 92 ± 3 (G2) (p<0,05 vs G1) y en G3 no se midió debido a ausencia de ritmo sinusal. Se observó bloqueo aurículo-ventricular (BAV) de 2° grado en G2 y de 3° grado en G3. El cociente peso del corazón (mg)/peso corporal (gr) fue G1: 4 ± 0,1; G2: 4 ± 0,3; G3: 8 ± 0,1 (p<0,05 vs G1 y G2). La sobreexpresión del RAT1 se asocia a bradiarritmias e incremento de la mortalidad. El desacople de la proteína G induce hipertrofia y BAV de 3°, sin embargo suprimiría la mortalidad temprana inducida por la sobreexpresión del RAT1.

**C19. Las modificaciones respiratorias en las dimensiones y presión de la aurícula derecha (DAD y PAD) regulan el ritmo cardíaco (RC) en ovejas sin control autónomo.** <sup>1</sup>Migliaro, ER; <sup>2</sup>Barra, JG. <sup>1</sup>Depto. de Fisiología, Fac de Medicina (UDELAR), Montevideo, Uruguay; <sup>2</sup>Depto. de Cs. Fisiológicas, Universidad Favaloro, Buenos Aires.

Las modificaciones respiratorias del RC son adjudicadas a influencias autónomas, sin embargo, en ausencia de estas (corazones transplantados, bloqueo experimental) dichas modificaciones persisten. Presentamos aquí evidencia de un control del RC por efecto mecánico. En ovejas previamente preparadas bajo anestesia (n=6) se midió PAD (micro-transductor de estado sólido), DAD (sensores ultrasónicos), el RC (duración de los intervalos RR del ECG) y el ciclo respiratorio (banda torácica). Los resultados se analizaron desplegando los registros en función del tiempo y mediante análisis espectral. En condiciones basales, durante el ciclo respiratorio, la DAD sufre cambios de 0.2 a 0.8 mm y la PAD media se incrementa 1.2 mmHg. Esto se acompaña con cambios del RC. Luego del bloqueo autónomo (propranolol 1 mg/Kg y atropina 0.2 mg/Kg), se mantiene la influencia respiratoria sobre la DAD, PAD y el RC. En todos los casos los espectros de frecuencias fueron superponibles. La compresión de la cava posterior, provocó una disminución de 2 mm en el DAD con disminución de la frecuencia cardíaca, ambas se revirtieron al cesar la maniobra. Se concluye que el RC es sensible a los cambios en el DAD en ausencia de control autónomo.

**C20. Nuevos métodos para evaluar la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC).** Migliaro, ER<sup>3</sup>; Guzik, P<sup>1</sup>; Piskorski<sup>2</sup>, J; Contreras P<sup>3</sup>.: <sup>1</sup>Depto. de Cardiología Universidad de Ciencia Médicas, Poznan, Polonia. <sup>2</sup> Inst. de Física Universidad de Zielona Góra, Polonia <sup>3</sup>Depto. de Fisiología. Facultad de Medicina (UDELAR) Montevideo, Uruguay.

El ritmo cardíaco es variable al igual que otras oscilaciones biológicas. Una amplia VFC se relaciona con la normalidad, mientras que en la diabetes y otras patologías, la VFC está reducida. Analizamos dos nuevas formas de evaluar la VFC en sujetos normales y

pacientes diabéticos tipo 1. En cada sujeto se obtuvo un registro de ECG de 10 min y otro de 24 h, en los que se midieron los intervalos RR y se calculó su desvío estándar (SDNN). Mediante el método de "Phase Rectified Signal Averaged" (Bauer 2006) se estudiaron la capacidad de desaceleración (DC) y la de aceleración (AC). Además, se estimó la "Heart Rate Assymetry" (Guzik 2006) mediante cuatro parámetros (SD1<sub>d</sub><sup>2</sup>, SD1<sub>a</sub><sup>2</sup>, C<sub>d</sub> y N<sub>d</sub>) derivados del análisis del gráfico de Poincaré. Los pacientes diabéticos tenían reducido el SDNN, DC, AC y SD1<sub>d</sub><sup>2</sup> (p< 0.05) en 10 min y en 24 h. El SD1<sub>a</sub><sup>2</sup> disminuyó sólo en 10 min (p=0,01) mientras que la C<sub>d</sub> sólo en 24 h (p=0,003) y N<sub>d</sub> en ninguno de los registros. Estas respuestas podrían estar relacionadas con el control autonómico del corazón y su análisis permite proponer que la magnitud de los cambios es más importante que el número eventos, elementos de importancia para elaborar hipótesis de control cardiovascular.

**C21. Despolarizaciones espontáneas (DEs) inducidas por acidosis usando un modelo matemático de miocito humano. Rol de la CaMKII.** Negroni JA, Lascano EC, Mundiña-Weilenmanm C, Vittone L, Said M, Mattiazzi A. U. Favaloro, Bs.As. CIC-UNLP. La Plata.

La acidosis es un componente de la isquemia que incide en la reducción de la contractilidad miocárdica. Por otra parte, el retorno al pH normal produce arritmias. La CaMKII contrarresta la inhibición de la acidosis sobre la SERCA2a (secuestro de Ca<sup>2+</sup> por el RS) y la corriente de Ca<sup>2+</sup> (I<sub>CaL</sub>), contribuyendo a recuperar parcialmente la contractilidad ("efectos protectores"). Sin embargo, la activación de CaMKII en la postacidosis se asocia con DEs. Objetivos: Simular la acción de CaMKII durante la acidosis/postacidosis y avanzar en los mecanismos arritmogénicos. Métodos: Se integraron los modelos de miocito humano (ten Tusscher, 2006) y de desarrollo de fuerza y liberación de Ca<sup>2+</sup> del RS (Negroni, 2008, 2009). Se tomó el efecto de la acidosis sobre los distintos mecanismos de Crampin (2006). Se simuló los flujos de I<sub>CaL</sub> y de secuestro de Ca<sup>2+</sup> individual y conjuntamente, en presencia y ausencia de la "protección" de CaMKII. Resultados: Luego de 6min de acidosis (pH=6.7) el modelo con "protección" de CaMKII sobre SERCA2a e I<sub>CaL</sub>, reprodujo las DEs de la postacidosis (pH=7.15) durante 2min. Estas desaparecieron al eliminar la CaMKII. Anulando la "protección" de CaMKII sobre SERCA2a e I<sub>CaL</sub> separadamente, desaparecieron las DEs inmediatas al retorno a pH (SERCA2a) o las más tardías (2min) (I<sub>CaL</sub>). La aparición de las DEs tardías coincidieron además con elevado Na<sup>+</sup><sub>i</sub>. Conclusiones: El modelo reproduce satisfactoriamente los datos experimentales (Said 2008), permite valorar las contribuciones individuales de los flujos iónicos en la generación de DEs, y agrega la contribución de I<sub>CaL</sub> a las DEs tardías.

**C22. Interacción física y funcional de la anhidrasa carbónica con la isoforma electrogénica NBC1 del cotransportador Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cardíaco.** Orłowski A, De Giusti VC, Álvarez BV, Aiello EA. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. CCT-CONICET La Plata. UNLP.

El cotransportador Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (NBC) participa de la regulación del pH intracelular (pH<sub>i</sub>) cardíaco. Nosotros proponemos que la isoforma electrogénica del NBC denominada NBC1 forma un complejo físico/funcional con la anhidrasa carbónica (AC). En western-blots (WB) de homogenato de corazón de rata (HCR) encontramos expresión de 4 isoformas de la AC (ACII, ACIV, ACIX y ACXIV) y del NBC1. ACII, ACIV, ACIX y ACXIV coinmunoprecipitaron con NBC1 en HCR, sugiriendo interacción física. La actividad del NBC1 se midió con



epifluorescencia en miocitos ventriculares de rata, sometidos a una despolarización celular mediante la elevación del  $K^+$  extracelular (pulso de  $K^+$ ). Los datos se expresan como aumento de unidades de  $pH_i$  a los 10 min del pulso de  $K^+$ ; \* indica  $p < 0,05$ . El pulso de  $K^+$  indujo un aumento del  $pH_i$  de  $0.14 \pm 0.04$  ( $n=3$ ) que fue anulado por un anticuerpo funcional contra el NBC1 ( $0.016 \pm 0.023$ ,  $n=5^*$ ). La interacción funcional entre NBC1 y AC se estudió con los bloqueantes de la AC, etoxizolamida (ETZ) y benzolamida (BZ). El incremento de  $pH_i$  control ( $0.165 \pm 0.017$ ,  $n=11$ ) fue inhibido por ETZ 100 M ( $0.053 \pm 0.014$ ,  $n=7^*$ ) y BZ 100 M ( $0.090 \pm 0.025$ ,  $n=6^*$ ). Estos resultados demuestran la presencia en miocitos cardíacos de una interacción física y funcional del NBC con la AC, sugiriendo que ambas proteínas funcionan acopladas formando un metabolón.

**C23. Evidencias mecánico-energéticas del rol mitocondrial en la cardioprotección (CP) cardiopléjica de rata.** Ragone, M.I. y Consolini, A.E. Cátedra de Farmacología, Dpto Cs. Biológicas, Facultad de Cs Exactas, Univ Nac. de La Plata (UNLP), Argentina. El rol mitocondrial (Mit) en la CP de corazones aislados de rata expuestos a cardioplejia (CPG) de alta  $[K^+]_o$  y a isquemia-reperusión (I/R) fue evaluado midiendo la presión intraventricular máxima desarrollada (P) y diastólica (LVEDP) y el flujo de calor total (Ht) de corazones perfundidos con Krebs (C) latiendo en un calorímetro a 30°C. La perfusión con CPG, seguido de I/R, mantuvo la economía ( $Eco = P/Ht$ ) vs. pre-I. Se adicionaron a CPG drogas para modificar transportes Mit. Clonazepam (Clzp 10  $\mu M$ ) (inhibidor de mNCX) redujo P en R (al 50  $\pm$  6.4% vs. 80  $\pm$  10%). Diazóxido 30  $\mu M$  (inductor del  $mK_{ATP}$ ) y Ru-360 1  $\mu M$  (inhibidor del  $Ca^{2+}$ -uniporter) redujeron la P en R (al 42  $\pm$  5.3% y 39.9  $\pm$  11.1%, resp.) con disminución de la Eco desde 9.4  $\pm$  0.9 a 2.3  $\pm$  0.6 y 2.4  $\pm$  0.7, resp.) y aumento de LVEDP. Ciclosporina-A 0.2  $\mu M$  (Cys-A, inhibidor del mPTP) no alteró P ni Eco. Clzp 10  $\mu M$  también redujo la contractura por 10 mM cafeína-baja  $[Na^+]_o$  en R. Los resultados sugieren que: a) la inhibición de la liberación o captación de  $Ca^{2+}$  Mit en CPG aumenta el "stunning" y reduce la Eco, b) la Mit participaría en la regulación del  $Ca^{2+}$  citosólico y SR, sin activar el mPTP, como parte de la cardioprotección por CPG.  
Subsidios: UNLP-X408/X513, PIP 6024/05.

**C24. Efectos del tratamiento con vitamina E y ácido lipoico sobre el síndrome metabólico por ingestión de fructosa en las ratas.** Reyes Toso CF; Wallinger M; Ricci CR; Rosón M, Balzer R; Reyes Toso ML; Linares LM. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. UBA.  
Estudios previos demostraron que animales con síndrome metabólico por ingestión crónica de fructosa (SM) presentan una relajación vascular disminuida. En este trabajo se estudiaron los efectos de la administración prolongada de Vitamina E (VE) y ácido lipoico (AL) sobre la reactividad vascular (RV) y algunas variables del SM. Las ratas se dividieron en dos grupos ( $n=24$  c/u): a) dieta estándar -DE-, b) DE+fructosa al 10% (F10%), y en subgrupos: 1-sin suplementos 2-VE 50mg/día, y 3-AL 50mg/día. Se controlaron: la presión arterial sistólica (PAS), glucemias y PTOG, triglicéridos y colesterol plasmáticos. Las ratas se sacrificaron a las 15 semanas y se extrajo la aorta torácica, corazón e hígado, para evaluar la RV y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). La VE y el AL disminuyeron el incremento de triglicéridos y colesterol en el grupo con F10% ( $p < 0.001$  y  $p < 0.05$ ). Sobre los TBARS la reducción fue mayor con AL que con VE ( $p < 0.01$  y  $p < 0.05$ ); ANOVA multifactorial. La RV se evaluó "in vitro" en anillos de aorta incubados con glucosa o manitol 44mmol/l. La

administración de VE y AL revirtió parcialmente la relajación acetilcolina-dependiente (Ach-d) disminuída de los anillos del grupo F10% ( $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ ). Conclusión: la administración de VE y AL mejora algunas variables metabólicas y revierte la disminución de la relajación Ach-d, probablemente evitando la acumulación de anión superóxido.

**C25. Efecto del estiramiento sobre el desarrollo de fuerza en la arteria umbilical: rol del calcio extracelular.** Roldán Palomo AR, Enrique N, Martín P, Rebollo A, Milesi V. Grupo de Investigación en Fisiología Vascular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.  
El estiramiento de la pared vascular puede modificar la  $[Ca^{2+}]_{intracelular}$  en las células de músculo liso que la forman y modificar así el estado contráctil del vaso. Se estudió la influencia del estiramiento sobre la respuesta contráctil en la arteria umbilical humana (AUH) midiendo el desarrollo de fuerza isométrico en anillos vasculares en respuesta a estímulos mecánicos variables. En diferentes anillos se aplicaron distintos estímulos de estiramiento inicial (0.5; 1; 2 y 3 g) en ausencia de  $Ca^{2+}$  y luego se agregó  $Ca^{2+}$  (2.5 mM) al medio extracelular. Esto produjo el desarrollo inmediato de una contracción con un valor de fuerza pico que luego se estabilizó en una fuerza menor; ambos valores aumentaron con el estiramiento. El mismo protocolo se realizó en presencia de sustancias inhibitorias de las estructuras que pueden mediar un influjo de  $Ca^{2+}$  en esta arteria: nifedipina 5  $\mu M$  (inhibe canales de  $Ca^{2+}$ ), gadolinio 200  $\mu M$  (inhibe canales catiónicos) y KBR7943 5  $\mu M$  (inhibe el intercambiador Na/Ca en modo reverso). Se observó que solo el gadolinio anuló la relación existente entre fuerza y estiramiento, mientras que nifedipina y KBR7943 inhibieron la magnitud de la fuerza pero no alteraron su relación con el estiramiento inicial.

**C26. Participación del retículo sarcoplasmático (RS) y la proteína quinasa dependiente de  $Ca^{2+}$  y calmodulina (CaMKII) en las arritmias miocárdicas de reperusión.** <sup>1</sup>Said M.; <sup>1</sup>Vittone L.; <sup>1</sup>Becerra R.; <sup>1</sup>Mundiña-Weilenmann C.; <sup>2</sup>Kaetzel M.; <sup>2</sup>Dedman J.R.; <sup>1</sup>Mattiuzzi A. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata -CCT-La Plata - Argentina. <sup>2</sup>College of Medicine, Cincinnati, OH, USA  
La reperusión que sigue a un período de isquemia, predispone a la aparición de arritmias, cuyos mecanismos aún no están aclarados y son el objetivo de este trabajo. Corazones de rata/ratón perfundidos por la técnica de Langendorff, fueron sometidos a isquemia global, seguido de reperusión (15-20/30min). Se midió simultánea o alternativamente potenciales de acción monofásicos (MAP) epicárdicos y la presión desarrollada por el ventrículo izquierdo. El comienzo de la reperusión (primeros 3min) provocó la aparición de latidos ectópicos. El patrón arrítmico observado se debió al menos en parte a posdespolarizaciones (tempranas y tardías), que en muchos casos culminaron en taquicardia o fibrilación ventricular. La aparición de latidos ectópicos disminuyó significativamente por el tratamiento con el inhibidor de la CaMKII, KN-93 (46  $\pm$  6 Control vs 11  $\pm$  3 KN-93) y por el inhibidor de la liberación de  $Ca^{2+}$  desde el RS, rianodina (46  $\pm$  6 Control vs 25  $\pm$  3 Ry). En experimentos realizados en ratones transgénicos con inhibición de la CaMKII a nivel de las membranas del RS (SR-AIP), se observó que las arritmias disminuyen significativamente. Sugerimos que las arritmias por reperusión son, en parte, dependientes de la CaMKII y del RS.  
PIP 02139. Subsidio Fogarty #1 R03 TW007713-01



**C27. Muerte celular mediada por la quinasa  $Ca^{2+}$  calmodulina II (CaMKII) en el daño por isquemia/reperfusión (I/R).** Salas MA.<sup>1</sup>, Valverde CA.<sup>1</sup>, Sánchez G.<sup>2</sup>, Said M.<sup>1</sup>, Rodríguez J.<sup>1</sup>, Portiansky EL.<sup>1</sup>, Kaetzel MA.<sup>3</sup>, Dedman JR.<sup>3</sup>, Donoso P.<sup>2</sup>, Kranias EG.<sup>3</sup>, Mattiazzi A.<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Médicas y Veterinarias<sup>1</sup>, La Plata, Argentina. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile<sup>2</sup>. College of Medicine, Cincinnati, OH, USA<sup>3</sup>.

La I/R cardíaca produce muerte celular por apoptosis y necrosis. Se ha descrito que la activación de CaMKII participa en esta acción deletérea desconociéndose el mecanismo. Con el fin de dilucidar las vías de señalización de este efecto, corazones de ratas Wistar, ratones transgénicos con inhibición de la CaMKII del RS (SR-AIP) y ratones controles (WT), fueron sometidos a I/R. La CaMKII se activó al comienzo de la reperfusión por el flujo de  $Ca^{2+}$  a través del intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$ . La inhibición de la uniporter y poro mitocondrial (MPTP),  $Ca^{2+}$ -ATP-asa del RS, receptor de rianodina y CaMKII (KN-93), disminuyó significativamente el tamaño de infarto, la liberación de LDH y el grado de apoptosis. Los ratones SR-AIP mostraron una disminución significativa de los mismos parámetros, respecto a los WT. En corazones sometidos a I/R, KN-93 redujo 2,5 veces la constante de velocidad del cambio de volumen mitocondrial inducido por  $Ca^{2+}$ , sugiriendo que el KN-93 previno la apertura del MPTP. Conclusión: el efecto deletéreo de la CaMKII en la I/R involucra una cascada en la que participan el intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$ , el RS y las mitocondrias.

**C28. Cambios biomecánicos diferenciales de arterias elásticas, transicionales y musculares al ejercicio ergométrico máximo realizado por jóvenes sanos.** Valls G; Bia D; Zócalo Y; Torrado J; Lluberas S; Craiem D; Armentano R. Depart Fisiología, Fac Medicina, Univ de la Republica, Montevideo, Uruguay; Fac Ingeniería y Cs Exactas y Naturales, Univ Favaloro, Bs As, Argentina. El estudio de diferentes indicadores, en condiciones basales y ante aumento de las demandas (Ej. prueba ergométrica graduada, PEG) da información complementaria en la evaluación cardiovascular (CV). Si bien se reconoce el rol de la biomecánica arterial en la fisiología y fisiopatología CV, su análisis en la evaluación CV es reciente e incluye solo estudios basales. Sujetos con propiedades basales normales pueden tener alterada la respuesta arterial al ejercicio, la que se evaluó en pocos estudios, con resultados controvertidos. Objetivos: a) caracterizar la biomecánica arterial regional y local, y su perfil temporal en respuesta a la PEG durante la recuperación y b) comparar la respuesta de diferentes territorios arteriales a la PEG. Métodos: En 16 jóvenes sanos, no entrenados se evaluó la velocidad de la onda de pulso carótido-femoral y la distensibilidad (ecografía) carotídea, femoral y braquial antes y post-PEG. Resultados: La PEG se asoció a cambios de la rigidez arterial evidenciada por parámetros locales y regionales. Hubo diferencias cuali-cuantitativas en los cambios en rigidez local cuando se analizó conjuntamente las diferentes arterias y etapas post-ejercicio. Los cambios arteriales asociados al ejercicio no se explican solo por variaciones en la presión arterial. Conclusiones: La PEG se asoció a cambios en la rigidez arterial. El estudio de la respuesta arterial al ejercicio podría dar información adicional en la estratificación y diagnóstico CV.

**C29. Liberación transitoria de  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplasmático al inicio de la reperfusión.** Valverde CA,<sup>1</sup> Korniyev D,<sup>2</sup> Ferreiro M,<sup>2</sup> Escobar AL,<sup>1</sup> Mattiazzi A.<sup>1</sup> Centro Investigaciones Cardiovasculares-UNLP-CCT-LaPlata-Conicet,<sup>2</sup> School of Engineering. U. California, Merced, USA.

Mucha evidencia avala que el atontamiento miocárdico es iniciado por sobrecarga citosólica de  $Ca^{2+}$  durante la reperfusión. Para estudiar el origen de este aumento de  $Ca^{2+}$ , se utilizó microscopía de fluorescencia de campo local pulsado en corazones intactos de ratones perfundidos (Langendorff) para evaluar el  $Ca^{2+}$  citosólico ( $Ca^{2+}_c$ ) del retículo sarcoplasmático (RS) y potenciales de acción (PA) transmembrana (Rhod-2, Mag-fluo-4 y Di-8-ANEPPS, respectivamente). Los corazones se sometieron a 12min de isquemia global seguida de reperfusión. La isquemia aumentó el  $Ca^{2+}_c$  junto con una disminución en la amplitud y una depresión en la cinética de los transitorios de  $Ca^{2+}$ . La reperfusión produjo un aumento transitorio en el  $Ca^{2+}_c$ , que se asoció temporalmente con una disminución en el contenido de  $Ca^{2+}$  del RS, a modo de imagen especular. Con pulsos de cafeína (20mM) se confirmó que el contenido de  $Ca^{2+}$  del RS disminuye rápidamente al inicio de la reperfusión. Esta disminución se asoció con una menor amplitud del transitorio de  $Ca^{2+}$  y con un acortamiento de la duración del PA principalmente de la fase 2. Los resultados indican una participación antes no reconocida del RS en la sobrecarga citosólica de  $Ca^{2+}$  durante la reperfusión evaluada en el corazón intacto. Adicionalmente, el acortamiento de la fase 2 del PA podría ser responsable en parte de las arritmias tempranas por reperfusión.

**C30. Rol del receptor tirosina quinasa erbb2 en la cardiomiopatía hipertrófica dilatada.** C Vasti, S Cavallero, H García Rivello, CM Hertig. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular INGEBI.

La actividad de los heterodímeros erbB2/erbB4 es esencial para el mantenimiento de la estructura y función del miocardio. La delección del erbB4 en músculo ventricular (erbB4-CKO) conduce a la cardiomiopatía dilatada en el adulto con un aumento de 1.5 veces en la relación peso del corazón-cuerpo así como en la longitud de los cardiomiocitos y con la reducción del 50% de su capacidad contráctil. Un grupo de genes diferencialmente expresados en el erbB4-CKO fue relacionado con la activación de vías dependientes del erbB2 que resultan en la hipertrofia del miocardio. De manera que se investigó la incidencia del erbB2 en el crecimiento hipertrófico, en ausencia del erbB4, mediante la utilización del modelo murino (denominado erbB4-CKO; erbB2+/-) que presenta una reducción del 50% en la proteína erbB2. En esta condición, se encontró una marcada reducción del crecimiento hipertrófico de los cardiomiocitos. Asimismo, la determinación de los niveles de expresión de genes relacionados a hipertrofia (ANP, BNP) mostró aumentos de 1.5 veces en el erbB4 CKO; erbB2+/- comparado con incrementos superiores a 5 veces en el erbB4-CKO relativos al salvaje. La morfología general del miocardio se encontró relativamente preservada, indicando que el proceso hipertrófico en el erbB4-CKO fue atenuado por reducción del erbB2. Estos resultados sugieren que, en ausencia de erbB4, el erbB2 puede activar vías alternativas a través de los receptores de EGF o acoplados a proteína G que conducen a un crecimiento hipertrófico patológico.

**C31. Nueva vía apoptótica inducida por ROS. Reajuste de la dependencia del  $Ca^{2+}$  de la CaMKII.** Velez Rueda, O, Palomeque, J, Sapia, L, Valverde, C, Salas, M, Vila Petroff, M, Mattiazzi, A. Ctro. de Invest. Cardiovasc., UNLP-CCT-La Plata-Conicet.

La CaMKII, las especies reactivas del oxígeno (ROS) y la Angiotensina II (AngII) están asociadas con la apoptosis cardíaca. Para evaluar si estas moléculas están relacionadas en una única vía de señalización o si constituyen diferentes cascadas en dos especies en

donde la AngII tiene efectos inotrópicos opuestos, cultivamos miocitos aislados de gatos y ratas por 24 hs  $\pm$  1  $\mu$ M AngII. La AngII indujo 1)  $\approx$ 40% de mortalidad celular, en parte por apoptosis (10.1  $\pm$  0.1% de células TUNEL positivas y 57.9  $\pm$  17% de aumento en la actividad caspasa-3), 2) aumento del 42  $\pm$  9% en la actividad de CaMKII y, 3) aumento en la producción de ROS. No se observaron cambios en el Ca<sup>2+</sup>, ni al comienzo ni al final del cultivo. El bloqueo de los receptores de IP<sub>3</sub> no previno la muerte celular inducida por AngII. La quelación del Ca<sup>2+</sup> con BAPTA-AM no pudo prevenir el aumento en la fosforilación de CaMKII inducida por AngII o por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, así como la muerte celular. Los resultados indican una única cascada apoptótica inducida por AngII para ambas especies en donde novedosamente los ROS reajustan los niveles de Ca<sup>2+</sup> necesarios para la activación de CaMKII a valores subdiastólicos.

**C32. El efecto Anrep post-estiramiento del miocardio requiere transactivación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (RFCE).** Villa-Abrille MC, Caldiz CI, Chiappe de Cingolani G, Pérez NG, Cingolani HE. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, UNLP-CCT-La Plata-Conicet.

En trabajos anteriores demostramos que la segunda fase de fuerza (SFF) post-estiramiento (efecto Anrep) es la manifestación mecánica de un mecanismo autocrino/paracrino de liberación de angiotensina II (AngII) y endotelina (ET) que conduce a la activación redox-sensible del NHE1. Dado que existen evidencias de que los efectos de AngII/ET son mediados por transactivación del RFCE, pensamos que la cascada de señalización que lleva a la SFF podría cancelarse por inhibición del RFCE. Se usaron músculos papilares aislados de gato y se los estiró de 92 a 98% de Lmax. La SFF fue 123  $\pm$  1% de la fase rápida inicial (n=6, P<0.05) y fue cancelada por inhibición del RFCE (1 mol/L AG1478, 98  $\pm$  2%, n=6). El estiramiento aumentó ERK1/2 (kinasa que conduce a la activación del NHE1) en un 216  $\pm$  24% del control (n=4, P<0.05), efecto que también fue cancelado por AG1478 (132  $\pm$  17%, n=4). Dado que la activación de ERK1/2 es redox-sensible, quisimos determinar si la inhibición del RFCE era capaz de cancelar la producción de anión superóxido inducida por AngII y ET-1 (método de quimioluminiscencia con lucigenina). AngII (1nmol/L) y ET-1 (5nmol/L) aumentaron la producción de anión superóxido alcanzando 146  $\pm$  14 (n=9) y 191  $\pm$  17 (n=13) % del control, respectivamente (P<0.05), efectos que fueron cancelados por AG1478 (94  $\pm$  5, n=12 y 98  $\pm$  15%, n=8, respectivamente). En conclusión, nuestros resultados muestran que la transactivación del RFCE es un paso necesario en la ruta de señalización que desencadena la SFF

**C33. La disminución de la actividad del NHE-1 por inhibición de la PDE5A se debe al aumento de la actividad de la Proteína Fosfatasa 1 (PP1).** Yeves A; Garcarena CD; Nolly MB; Chiappe de Cingolani GE; Pérez NG; Ennis IL, Cingolani HE. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, UNLP. CCT-CONICET-La Plata.

La inhibición de la fosfodiesterasa 5A (PDE5A) disminuye la actividad del NHE1 por un mecanismo aún no conocido. Nuestro objetivo fue determinar la vía de señalización intracelular involucrada en dicha inhibición en miocitos cardíacos aislados de gato. La actividad del NHE1 (J<sub>H+</sub>, mmol/L/min) se determinó durante la recuperación del pH intracelular luego de una carga ácida en ausencia de bicarbonato. La inhibición de PDE5A con SIL (1  $\mu$ mol/L) o EMD3605227/5 (0.1  $\mu$ mol/L) disminuyó el J<sub>H+</sub> de 2.15  $\pm$  0.18, n=10 (control) a 1.24  $\pm$  0.17, n=10 y a 1.31  $\pm$  0.16, n=6 (P<0.01) respectivamente.

La inhibición de PKG con KT5823 (1  $\mu$ mol/L) y de PP1 y PP2A con ácido okadaico (OKA) 100nmol/L revirtió el efecto de SIL (J<sub>H+</sub>: 2.13  $\pm$  0.27, n=12 y 2.97  $\pm$  0.39, n=10, respectivamente). Inhibiendo solamente la PP2A con OKA 1 nmol/L o endothall (inhibidor específico de PP2A, 100  $\mu$ mol/L) no se modificó el efecto de SIL (1.34  $\pm$  0.21, n=12 y 0.94  $\pm$  0.16, n=10 respectivamente). La acidosis aumentó la fosforilación de ERK1/2, p90RSK y del NHE-1 (189  $\pm$  23 %, n=11, 187  $\pm$  17 %, n=11 y 128  $\pm$  9.5%, respectivamente, P<0.01 vs control). SIL no modificó la fosforilación de ERK1/2 y p90RSK (187  $\pm$  31 %, n=7, 201  $\pm$  30%, n=8, respectivamente), pero disminuyó la fosforilación del NHE1 (82  $\pm$  11.7%, n=8, P<0.01). Concluimos que la inhibición de PDE5A disminuye la actividad del NHE1 por una disminución de su fosforilación probablemente por activación de PP1

## ELECTROFISIOLOGÍA

**E1. Intercambiador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> en la arteria umbilical humana: caracterización de sus corrientes iónicas mediante la técnica de patch-clamp.** Enrique N, Martín P, Roldán Palomo AR, Rebolledo A, Milesi V. Grupo de Investigación en Fisiología Vasculard, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Se ha demostrado que el intercambiador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> de la membrana plasmática tiene un importante rol funcional en el músculo liso vascular. Alteraciones en su funcionamiento han sido relacionadas con la etiología de la hipertensión dependiente del consumo de sal. Nuestro objetivo fue caracterizar este intercambiador en células de músculo liso vascular de la arteria umbilical humana (AUH) mediante la medida de corrientes iónicas a través del mismo en "inside-out patches". En células frescas disociadas enzimáticamente observamos la activación de una corriente iónica con una amplitud de 5.5  $\pm$  1.2 pA (n=15) evocada por el aumento de la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular en presencia de 1  $\mu$ M de Ca<sup>2+</sup>. La remoción del Ca<sup>2+</sup> intracelular inactivó la corriente y su posterior restitución activó una de mayor amplitud (14.1  $\pm$  3.4 pA; n=12). Estos resultados preliminares muestran en primer lugar que es posible registrar la corriente del intercambiador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> en células nativas, lo cual constituye un sistema muy interesante para el estudio de las propiedades electrofisiológicas y farmacológicas de dicha estructura. Además, las diferencias observadas en presencia y ausencia de Ca<sup>2+</sup> confirman que en la AUH esta estructura tiene un sitio regulador dependiente del Ca<sup>2+</sup> intracelular, como ha sido demostrado en miocitos cardíacos, entre otros.

**E2. Corrientes aniónicas en una línea celular derivada de trofoblasto humano (BeWo).** Marino, GI, del Mónaco SM, Assef YA, Kotsias BA. Laboratorio de Neurofisiología y Canales Iónicos. Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, UBA-Conicet.

El sincitiotrofoblasto (SCT) en la placenta humana regula el transporte de nutrientes entre la madre y el feto. El Canal Regulador de la Fibrosis Quística (CFTR), presente en el SCT, además de formar un canal de Cl<sup>-</sup>, también regula la actividad de otros canales como el Canal Aniónico de Rectificación Saliente (ORCC). Estas evidencias sugieren que CFTR y ORCC estarían presentes en las células BeWo, una línea celular derivada de trofoblasto humano, utilizada como modelo para el estudio del transporte en la placenta. Mediante la técnica de patch-clamp en la configuración de célula entera, detectamos corrientes de Cl<sup>-</sup> en células BeWo, con una conductancia (g) saliente macroscópica de 24.5

$\pm 5.9$  pS/pF, determinada entre 0 y 100 mV (n=6). Por estudios de canal único en la configuración inside-out, identificamos un canal lineal, compatible con CFTR (g=  $15.0 \pm 0.9$  pS, n=4) y otro canal de Cl<sup>-</sup>, también funcional, con rectificación saliente y propiedades similares al ORCC (g saliente=  $55.0 \pm 4.4$  pS, g entrante=  $20.7 \pm 6.5$  pS, n=7), inhibible con glibenclamida. Además, observamos las bandas esperadas del canal CFTR por RT-PCR (295 pb) y por Western blot (~160 kDa). Los datos presentados en este trabajo serán la base para futuros estudios del mecanismo involucrado en el transporte de la placenta normal y en condiciones patológicas.

**E3. Caracterización del canal de K<sup>+</sup> de tipo TREK-1 de la familia de canales de background K<sub>2P</sub> en la arteria umbilical humana (AUH).** Martín P, Roldán Palomo AR, Enrique N, Flores LE, Raschia MA, Rebolledo A, Milesi V. GINIV, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. CENEXA, UNLP-CONICET. El objetivo del trabajo fue la identificación y la caracterización electrofisiológica (patch-clamp) y farmacológica de estos canales en células de músculo liso aisladas enzimáticamente a partir de la AUH (n=34). En la configuración de canal único de cell-attached observamos, en 11 células, un canal de una conductancia de  $135,3 \pm 5,9$  pS con una probabilidad de apertura (NPo) de  $0,262 \pm 0,083$  (+40 mV), que al pasar a inside-out cambió a una conductancia de  $251,5 \pm 7,8$  pS (p<0,05) y NPo =  $0,005 \pm 0,001$  (+40 mV, p<0,05). En ambos casos la NPo presentó una dependencia exponencial con el voltaje. La disminución del pH (de 7,4 a 6,0) de la solución en contacto con la cara interna de la membrana y el ácido araquidónico (10  $\mu$ M) produjeron un aumento significativo de la actividad del canal (n=6 en cada caso). La bupivacaína (300  $\mu$ M) provocó una inhibición rápida del canal (n=4). Mediante la técnica de Reverse Transcriptase-PCR se confirmó la presencia del RNAm para el canal TREK-1 mientras que no se halló el correspondiente al TREK-2. Estos resultados nos permiten sugerir que el canal TREK-1 está funcionalmente expresado en la AUH, ya que las propiedades electrofisiológicas y farmacológicas se corresponden con las descriptas para este tipo de canal.

## ENDOCRINO

**EN1. Modulación de la activación de células T por hormonas tiroideas (HT) a través de la regulación de la isoforma  $\alpha$  de su receptor (TR $\alpha$ ).** Barreiro Arcos ML<sup>1</sup>, Sterle H<sup>1</sup>, Paulazo MA<sup>1</sup>, Klecha AJ<sup>1,3</sup>, Fariás RN<sup>2</sup>, Cremaschi GA<sup>1,3</sup>. CEFYBO-CONICET<sup>1</sup>; INSIBIO-UNT-CONICET<sup>2</sup>; Lab. Radioisótopos, FFyB, UBA<sup>3</sup>. Las HT ejercen acciones en el desarrollo, crecimiento y diferenciación celular y regulan la respuesta inmune mediante la inducción de mecanismos genómicos y no genómicos. Los mecanismos fisiológicos involucrados a nivel linfocitario aun no se conocen. En este trabajo analizamos los caminos de señalización involucrados en los efectos proliferativos de las HT en células T BW 5147. Tanto las HT libres (T3 y T4) como sus análogos acoplados a agarosa (T3-ag y T4-ag) estimulan la proliferación celular, aunque estas últimas en menor magnitud. Ambas, HT libres y T3- y T4-ag, inducen la activación de la PKC $\zeta$  río arriba de NF- $\kappa$ B y de ERK, dado que el tratamiento con el pseudosustrato de PKC $\zeta$  bloquea la traslocación de NF- $\kappa$ B al núcleo y la fosforilación de ERK. Las HT y HT-ag inducen la activación no genómica de NOS y el aumento (a las 12 hs de cultivo) de la expresión proteica y genómica del

TR $\alpha$ , el cual posteriormente retorna a niveles basales, lo que demuestra la existencia de una regulación negativa por HT. Estos resultados sugerirían que los efectos no genómicos y genómicos de las HT regulan la actividad linfocitaria T, involucrando la activación de quinasas y de NF- $\kappa$ B que regularían la expresión iNOS y del propio receptor hormonal.

**EN2. Efecto de la NADPH oxidasa sobre el mecanismo de regulación de la secreción de insulina inducida por diferentes estímulos.** Borelli MI, Raschia A, García ME, Rebolledo OR y Gagliardino JJ. CENEXA, UNLP-CCT La Plata, CONICET

Previamente ha sido estudiada la actividad de la NADPH oxidasa en islotes pancreáticos de animales normales, aunque hasta el momento restaba esclarecer su efecto sobre la secreción de insulina en respuesta a diferentes secretagogos. En este trabajo estudiamos la actividad de NADPH oxidasa en islotes aislados de ratas normales y su efecto modulador sobre la secreción de insulina estimulada por diferentes secretagogos. Nuestros resultados muestran que islotes de rata incubados en presencia de glucosa (16.7 mM), ácido palmítico, ácido oleico y KCl incrementan significativamente la actividad de NADPH oxidasa con respecto a aquella medida frente a glucosa 3.3 mM. La incubación de islotes en presencia de estos secretagogos más el agregado al medio de un inhibidor de la NADPH oxidasa, el ioduro de difenilo (DPI) revierte el efecto estimulador. Todos los secretagogos testeados incrementan la secreción de insulina sobre el nivel basal. El DPI disminuye significativamente la respuesta secretora de los islotes incubados en presencia de 16.7 mM de glucosa e incrementa la respuesta frente al ácido oleico y al KCl, sin afectar aquella inducida por el ácido palmítico y la arginina. Estos resultados sugieren que la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) inducidos por NADPH oxidasa sería estímulo dependiente y jugaría un rol sobre el mecanismo de regulación de la secreción de insulina.

**EN3. Papel regulador de las proteínas desacoplantes mitocondriales (UCP) en la adaptación metabólica hepática frente a una dieta rica en fructosa (DRF).** Castro MC, Pereyra AS, Gagliardino JJ, Massa ML, Francini F. CENEXA (UNLP-CCT La Plata-CONICET)

Introducción: La producción de ROS por la cadena electrónica mitocondrial está regulada parcialmente por UCPs. Los PPAR modulan la expresión de éstas. No está claro qué ocurre a nivel hepático cuando existe sobreproducción de ROS por sobreoferta de sustratos metabolizables. Para responder al interrogante, utilizamos ratas alimentadas con una DRF, promoviendo el desarrollo de estrés oxidativo. Objetivos: Evaluar la participación de UCP2, UCP3 y PPARs en la adaptación hepática frente a la sobrecarga metabólica generada por DRF. Materiales y Métodos: Se alimentaron ratas Wistar macho normales con dieta comercial sin (C) o con fructosa (DRF) al 10% en la bebida (21 días). Se midieron glucemias (G), triglicéridemias (TG), insulinemias (In) y HOMA-R. Determinaciones hepáticas: 1) contenido de TG y actividad de Glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), 2) ARNm (qPCR) de PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$  y PPAR $\gamma$ , SREBP-1c, FAS, UCP2 y UCP3, 3) expresión proteica de UCP2. Resultados: DRF vs C: aumento de G (p<0.005), In (p<0.02), TG, HOMA-R (p<0.001) (insulinorresistencia), contenido proteico de UCP2, actividad de GPAT, contenido de TG (p<0.05), expresión génica de: PPAR $\delta$ , SREBP-1c, UCP2 y FAS (p<0.05) y disminución de PPAR $\gamma$  (p<0.05), sin cambios en PPAR $\alpha$  ni detección de UCP3. Conclusiones: Frente a la sobreoferta de sustratos metabólicos, UCP2 y no UCP3 asumiría un papel compensador y en estas condiciones PPAR $\delta$  modularía la expresión de UCP2.

**EN4. Efecto modulador del sistema endocanabinoide sobre la función celular  $\beta$ .** Flores LE, Raschia MA, Suburo AM\*, Alzugaray ME, Madrid VG, Del Zotto HH, Maiztegui B, Borelli MI, García ME, Francini F, Massa ML, Gagliardino JJ. CENEXA (UNLP-CCT La Plata-CONICET). Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Austral, Buenos Aires.

Objetivo: Estudiar el posible papel regulador del sistema endocanabinoide sobre los cambios endocrino-metabólicos inducidos por una dieta rica en fructosa (DRF). Métodos y resultados: identificamos en células insulares de rata los receptores CB1 (células  $\alpha$ ) y CB2 (células  $\beta$  y  $\delta$ ) (inmunohistoquímica y RT-PCR). Medimos secreción de insulina *in vitro* (RIA) en islotes incubados con diferentes concentraciones de glucosa y Anandamida, ACEA (agonista CB1) ó JWH (agonista CB2). La anandamida (10 $\mu$ M y 100 $\mu$ M) aumentó la secreción de insulina con glucosa 8.3mM y 16.7mM respectivamente ( $p < 0.05$ ). A 16.7mM glucosa, ambos agonistas (ACEA y JWH) aumentaron la secreción de insulina a 1 $\mu$ M ( $p < 0.05$ ) y la disminuyeron a 20 $\mu$ M ( $p < 0.05$ ). En ratas alimentadas con DRF al 10% durante 21 días, registramos un aumento del consumo de calorías, del peso corporal, la glucemia, trigliceridemia, insulinemia y el índice HOMA-IR ( $p < 0.05$ ) mientras que la administración simultánea de 2mg/rata/día Rimonabant (antagonista-CB1) corrigió estas alteraciones ( $p < 0.05$ ). Conclusión: La presencia de CB1 y CB2 en el islote con un patrón de distribución celular definido permite la modulación de la secreción de insulina por el sistema endocanabinoide, mientras que su bloqueo *in vivo* corrige la mayoría de las anomalías inducidas por la DRF.

**EN5. Radical hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ) inducido por hiperglicemia conduce a apoptosis hepática. Nuevo efecto de insulina.** Francés D<sup>1</sup>, Ronco MT<sup>1</sup>, Monti J<sup>1</sup>, Ingramo P<sup>1</sup>, Pisani G<sup>2</sup>, Parody J<sup>1</sup>, Pellegrino J<sup>1</sup>, Carrillo MC<sup>1</sup> y Carnovale CE<sup>1</sup>. <sup>1</sup>IFISE-CONICET. <sup>2</sup>UNR

Los radicales libres derivados de la hiperglicemia median complicaciones en el estado diabético. Analizamos la contribución de  $\text{HO}\cdot$  a la apoptosis hepática por vía Bax-caspasas durante la hiperglicemia. Ratas Wistar macho adultos fueron separados en 5 grupos: control (C), Diabéticas inducidas por Estreptozotocina (STZ) (D) (STZ 60mg/kg, i.p.). Quince días post-STZ D fue tratado con: insulina (D+I) (3 veces al día, s.c, 15días); Desferoxamina (D+DES) (100mg/kg, i.p., 15 días) y Tempol (D+TEMP) (20mg/kg, i.v., 15 días). En el día 30 el grupo D mostró un aumento significativo en hígado de:  $\text{HO}\cdot$  (56%) (relación 2,3-dihidroxibenzoato/salicilato por HPLC), niveles de lipoperoxidación (MDA), relación mitocondrial Bax/Bcl- $x_L$  (270%), nivel de citocromo c (cyt c) citosólico (120%), y actividad caspasa-3 (40%) llevando a un aumento en el índice de apoptosis (170%). El tratamiento de D con inhibidores de  $\text{HO}\cdot$  atenuaron su aumento (D+DES=-48%, D+TEMP=-38%), disminuyeron MDA, y previnieron apoptosis por reducción de Bax/Bcl- $x_L$  y los niveles de cyt c citosólico, sin afectar los niveles de la proteína inhibidora de apoptosis (XIAP). La insulina disminuyó  $\text{HO}\cdot$  (-50%) y MDA así como la relación Bax/Bcl- $x_L$  y la liberación de cyt c, atenuando la apoptosis y aumentando XIAP (48% vs D). El  $\text{HO}\cdot$  derivado de la hiperglicemia media la apoptosis hepática. La insulina mostró efecto anti-apoptótico aumentando XIAP.

**EN6. Ontogenia de las células INGAP-positivas: relación con la masa  $\beta$ .** Madrid V, Maiztegui B, Raschia MA, Flores LE, Borelli MI, Gagliardino JJ, Del Zotto H. CENEXA (UNLP-CONICET), La Plata

El INGAP (Proteína-Asociada-Neogénesis-Insular) participa en el crecimiento de la masa  $\beta$  en el animal adulto, pero se desconoce su papel durante la embriogénesis.

Estudiamos la ontogenia de estas células en relación a la masa de células  $\beta$ . Utilizamos fetos de 11 (E11), 17 (E17) y 19 (E19) días de gestación y crías de una semana (P7) de ratas Wistar normales. Medimos glucemia (G), peso corporal (P) y del páncreas (PP); en este último realizamos estudios morfométricos. La G fue mayor en P7 (61,8  $\pm$  3,1 vs. 56,6  $\pm$  2,4 vs. 88,1  $\pm$  0,9). Los valores de P y PP aumentaron con la edad P (0,85  $\pm$  0,03 vs. 1,84  $\pm$  0,04 vs. 12,31  $\pm$  0,2 g), PP (1,70  $\pm$  0,1 vs. 3,68  $\pm$  0,1 vs. 24,07  $\pm$  1,1 mg). La masa celular  $\beta$  fue mayor en P7 (0,00586  $\pm$  0,0013 vs. 0,0241  $\pm$  0,076 vs. 0,33  $\pm$  0,092); este aumento se debió al aumento significativo del número de células  $\beta$  por islote (55,1  $\pm$  5,3 vs. 36,5  $\pm$  8,6 vs. 147,1  $\pm$  66,7 células/islote), al aumento progresivo de la masa de células CK19-positivas (0,01  $\pm$  0,001 vs. 0,02  $\pm$  0,002 vs. 0,25  $\pm$  0,09 mg;  $p < 0,05$ ) y a una disminución de la apoptosis (3,4  $\pm$  2,3 vs. 1,6  $\pm$  0,1%;  $p < 0,05$ ). Las células INGAP-positivas aparecieron en E17 y su masa aumentó significativamente en P7 (0,044  $\pm$  0,02 vs. 0,01  $\pm$  0,002 vs. 0,15  $\pm$  0,06 mg). La aparición de células INGAP-positivas en el momento de diferenciación endócrina masiva sugiere que el INGAP participa en el control de la masa celular  $\beta$ .

**EN7. Efecto de Sitagliptina y Exendina-4 sobre la función insular en ratas con insulinorresistencia inducida por fructosa** Maiztegui B, Borelli MI, Madrid V, Raschia MA, Francini F, Massa ML, Flores L, Del Zotto H, Gagliardino JJ. CENEXA (UNLP-CCT La Plata-CONICET)

Objetivo: Estudiar el efecto de sitagliptina (inhibidor de la dipeptidil peptidasa-4, enzima que degrada al GLP-1) y de exendina-4 (agonista del receptor de GLP-1) en ratas alimentadas con una dieta estándar sin (C) o con el agregado de fructosa al 10% en el agua (F) durante 21 días, sobre la función insular. Métodos: Las ratas C y F se dividieron en 3 subgrupos: no tratado, tratado con sitagliptina y con exendina-4. Al sacrificio se realizó una prueba de tolerancia oral a la glucosa, medimos glucemia, trigliceridemia e insulinemia. Se extrajo el páncreas y se aislaron islotes para estudiar la secreción de insulina (glucosa 3, 8 y 16 mM) y el metabolismo de glucosa (glucosa 3 y 16 mM). Resultados: Las glucemias de ayunas fueron similares en todos los grupos. En las ratas F aumentaron significativamente los triglicéridos, insulinemias, índice HOMA-R, índice HOMA- $\beta$ , área de glucosa bajo la curva, el metabolismo insular de glucosa y la secreción de insulina frente a glucosa 3, 8 y 16 mM; todos estos parámetros se normalizaron con la administración de exendina-4 y sitagliptina. Conclusiones: La administración de exendina-4 y de sitagliptina a ratas con insulinorresistencia inducida por fructosa, normaliza la homeostasis glucémica probablemente a expensas de un aumento de la sensibilidad a la insulina.

**EN8. Análisis de la expresión de INGAP y REG3 $\beta$ , dos miembros de la familia de proteínas Reg.** Raschia MA, Flores LE, Madrid VG, Del Zotto HH, Gagliardino JJ. CENEXA, UNLP-CCT La Plata-CONICET.

INGAP (Islet-Neogenesis-Associated-Protein) es una proteína del páncreas de hámster perteneciente a la familia Reg no encontrado en otras especies, y un pentadecapéptido del INGAP (INGAP-PP) reproduce el efecto biológico de la molécula intacta. Objetivo: Identificar INGAP o alguna proteína similar en páncreas de rata. Metodología: Analizamos la secuencia del ADNc y proteína del INGAP con los programas Blast y Clustal-W2. Determinamos la localización inmunohistoquímica del INGAP en páncreas de rata y hámster. Amplificamos y secuenciamos el ADNc insular y pancreático de ambas especies por RT-PCR utilizando cebadores específicos para INGAP (hámster), Reg3 $\beta$  (rata) y un tercer par (DegRI) capaz de reconocer ambos ADNc. Resultados:



INGAP y Reg3 $\beta$  mostraron una homología del 68% (ADNc) y 58.5% (proteína). Los cebadores de Reg3 $\beta$  y DegRI amplificaron en ambas especies mientras que los de INGAP sólo en hámster. El fragmento obtenido con los cebadores DegRI en rata presentó un 94% de homología con Reg3 $\beta$  y 64% con INGAP. En ambas especies detectamos (inmunohistoquímica), células insulares no $\beta$  que se tiñeron con un anticuerpo de INGAP cuyo epítopo antigénico presenta una homología del 84% entre INGAP y Reg3 $\beta$ . Conclusión: Estos resultados y la alta homología de INGAP-PP con Reg3 $\beta$  (85%) sugieren la coexistencia de ambas proteínas en el páncreas de hámster pero solo de Reg3 $\beta$  en la rata.

**EN9. Efecto del estrés en la respuesta inmune en animales diabéticos. Correlación con la glucemia, corticosterona y catecolaminas.** Rubinstein MR, Cremaschi GA, Wald MR y Genaro AM. CEFYBO-CONICET-UBA.

Se ha sugerido la existencia de un paralelismo entre el estado diabético y la inmunosupresión. En los últimos años, ha tenido un significativo reconocimiento la participación de factores psicosociales (en particular el estrés) en el desarrollo y la evolución de la diabetes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del estrés crónico moderado (CMS) en el desarrollo y evolución de la diabetes y la correlación con la respuesta inmune en ratones de la cepa Balb/c. Los resultados mostraron una disminución en la sobrevida y un aumento en la glucemia en los animales diabéticos sometidos a CMS. Con respecto a la respuesta inmune, la exposición al CMS en los animales diabéticos disminuyó la proliferación (medida a través de la incorporación de <sup>3</sup>H-timidina) de linfocitos T y B estimulados con mitógenos selectivos. Para evaluar que mecanismos podrían estar participando en este efecto se estudiaron los mediadores del estrés, encontrándose aumentadas las catecolaminas pero no la corticosterona. Se encontró una correlación negativa entre la glucemia y la proliferación y positiva entre la glucemia y los niveles de catecolaminas, sugiriendo que el aumento en las catecolaminas sería el responsable del aumento en la glucemia en los animales diabéticos sometidos a CMS y este aumento de la glucemia participaría en la disminución de la proliferación linfocitaria.

**ENSEÑANZA DE LA FISIOLÓGIA**

**EF1. Efectos de la discusión en la instrucción por pares.** Giuliodori, M.J., Lujan, H.L., and DiCarlo, S.E. Fisiología, Fac. Cs. Veterinarias, UNLP, Dept. Physiology, Wayne State Univ. School of Medicine. Detroit, USA.

En un curso de Fisiología Veterinaria (N: 101) se utilizó Instrucción por pares (IP) y se evaluó qué sucede cuando discuten pares con la misma o con diferente respuesta individual, qué efecto poseen el acierto y la confianza (seguridad) en la respuesta individual en las discusiones, y qué tipo de interacciones generan los efectos de la IP. Se identificaron los alumnos con números (PIN) y se usaron cuestionarios donde cada alumno debía anotar su PIN y el de sus pares, y las respuestas con la confianza. Los cuestionarios se usaron para estimar las respuestas correctas (# y %) y los niveles de confianza. La probabilidad de cambiar fue mayor en las respuestas individuales incorrectas (OR: 3.52, P<0.01) y en las de baja confianza (OR=3.95, P<0.01). Además, las respuestas con baja confianza tuvieron más chances de ser incorrectas (OR: 2.0, P<0.01). La mayor parte de los cambios se produjeron en los grupos con diferentes

respuestas individuales (81% del total de cambios, P<0.05), y a su vez, en esos grupos con disenso, más cambios fueron de incorrecto a correcto que viceversa (58% vs. 26%, P<0.05). Así, los efectos positivos de IP fueron mayores que los negativos (OR: 2.7, 73% vs. 27%, P<0.05) y se debieron a que en el disenso cambian más los que tienen la opción incorrecta, y a que en el consenso cambian algunos grupos en los que todos sus integrantes tienen la respuesta incorrecta. En conclusión, en las discusiones prevalecen los alumnos que poseen la respuesta correcta.

**ESTRÉS OXIDATIVO**

**EO1. Efecto de agroquímicos sobre la supervivencia celular en tejidos de rata.** Astiz M; Alaniz MJ Tacconi de; Marra CA. INIBIOLP-CONICET, Cát. Bioqca. Biol. Mol., Fac. Cs. Médicas, UNLP

La intoxicación sub-crónica (i.p 1/250 DL50) con dimetoato (D), glifosato (G) y zineb (Z), administrados individualmente o en combinación, causa estrés oxidativo (EO) en hígado (H) y cerebro de rata. En este trabajo investigamos el efecto del estrés sobre la supervivencia celular en H y dos regiones cerebrales, sustancia nigra (SN) y corteza (CC). La integridad de la membrana mitocondrial (MM) interna disminuyó entre un 20 y 60 % en todos los tejidos, mientras que la de la MM externa solo se vió alterada en la SN de animales tratados con Z, G y D. El contenido mitocondrial de cardiolipina disminuyó en todos los grupos tratados y en todos los tejidos (en H disminuyó un 30% y en SN y CC un 60 %). No se observaron cambios en la actividad de la caspasa-3 aunque aumentó la actividad de calpaínas en ambas zonas cerebrales (mas del 40 y del 20 % para SN y CC respectivamente). Se produjo fragmentación del DNA en animales tratados con los tóxicos siendo este efecto más importante en H. Imágenes obtenidas al microscopio óptico revelan en H la presencia de alteraciones en la estructura celular con núcleos picnóticos, mientras que no se observan lesiones en el C. En conclusión, dosis relativamente bajas de pesticidas serían capaces de generar un EO (agravado por la administración combinada) lo suficientemente severo para inducir eventos de muerte celular. Los resultados contribuirían a dilucidar los efectos de la exposición crónica involuntaria a combinaciones de agroquímicos.

**METABOLISMO LIPÍDICO**

**ML1. Perfil de lípidos séricos en ratones con y sin exceso de hierro.** García BN, López GH, Roque ME. Fisiología Humana. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur-CONICET. Bahía Blanca. Las múltiples relaciones entre Hierro (Fe), Radicales Libres, Acidos Grasos (AG) y mediadores lipídicos de la inflamación, destacan que el Fe en exceso altera la síntesis de lípidos y de moléculas antioxidantes y antiinflamatorias. La propuesta fue estudiar los lípidos séricos de ratón y su composición en Ácidos Grasos, evaluando los cambios inducidos por Fe exógeno. Ratones CF1(27 ± 1,8g) agrupados en: 1)Sin tratar (n=8): SF (0.5ml/i.p); 2)Tratados con Fe (n=6): Fe-Dextrán (Laboratorios Rivero) (1g/kg/05ml,i.p) (días: 0-10). Determinación de Colesterol (Col), Triglicéridos (TG), Lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL) por colorimetría-enzimática. Extracción lipídica con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Cloroformo/Metanol. Metilésteres de AG obtenidos por metanólisis alcalina y purificados por TLC. Composición

porcentual en AG: Cromatografía Gaseosa, columna HP-Innowax. Perfil lipídico similar entre ratones tratados y sin tratar: Col (0,94g/L  $\pm$  0.09); TG (0,86g/L  $\pm$  0.11); LDL (0,20g/L  $\pm$  0.024); HDL (0,70g/L  $\pm$  0.11). Con exceso de Fe aumentaron los AG Poliinsaturados, respecto al control (28,7  $\pm$  6,7 a 48,20  $\pm$  3,2), disminuyeron los Monoinsaturados (49,1  $\pm$  11,2 a 25,6  $\pm$  5,8), y no hubo cambios en los Saturados. En el aumento de Poliinsaturados, contribuyeron principalmente el Acido Araquidónico (20: 4n-6) (6,9  $\pm$  1,9 a 13,5  $\pm$  4) y el Acido Docosahexaenoico (22: 6n-3) (2,7  $\pm$  0,5 a 4,6  $\pm$  1,2). En la disminución de Monoinsaturados contribuyó el Acido Oleico (18: 1n-9) (48,2  $\pm$  11 a 23,4  $\pm$  6,3). Establecimos la composición en Ácidos Grasos de lípidos séricos de ratón e identificamos significativos cambios en sobrecarga de Fe. Concluimos que el aumento de Ácidos Grasos Poliinsaturados podría sugerir la participación del Fe en procesos inflamatorios mediados por moléculas eicosanoides.

**ML2. Alteraciones del estado glicoxidativo y perfil lipídico en dieta rica en fructosa.** García ME<sup>1</sup>, Marra CA<sup>2</sup>, Gagliardino JJ, Rebolledo OR<sup>1</sup> CENEXA (UNLP-CCT-La Plata-CONICET), <sup>1</sup>INIBIOLP (UNLP-CONICET), La Plata.

Objetivo: evaluar cambios en composición y grado de per-oxidación de lípidos de lipoproteínas plasmáticas (LP) e índices de riesgo aterogénico (IRg) inducidos por dieta rica en fructosa (DRF), (10% en el agua [F10] /3 semanas). Métodos y resultados: En plasma de ratas Wistar macho normales (F0) y F10 en condición basal, se determinaron: glucosa (G), insulina (I), tri-glicéridos (TG), fructosamina (F), ácidos grasos libres (AGL) colesterol total (CT) y fracciones, composición de ácidos grasos de LP por HPLC y cinética de peroxidación inducida con Cu<sup>++</sup> (PICu). F10 aumentaron en plasma: F (162.6  $\pm$  3.3 vs 146.2  $\pm$  5.6  $\mu$ mol/l), I (4.7  $\pm$  0.6 vs 2.7  $\pm$  0.5 ng/ml), TG (1.80  $\pm$  0.14 vs 0.95  $\pm$  0.10), AGL (0.26  $\pm$  0.01 vs 0.22  $\pm$  0.01), VLDL-C (0.83  $\pm$  0.06 vs 0.44  $\pm$  0.05); disminuyeron HDL-C (0.58  $\pm$  0.04 vs 0.80  $\pm$  0.04) y LDL-C (0.50  $\pm$  0.12 vs 0.83  $\pm$  0.09) mmol/l y sin cambios en CT y G. En HDL y (VLDL+LDL) de LP de F10 aumentó la relación AG saturados /AG monoinsaturados y AGsat./PUFA. F10 disminuyó el tiempo de inicio de PICu en HDL y (VLDL+LDL) (33.3  $\pm$  2.9 vs 76.9  $\pm$  4.4 min y 25.4  $\pm$  3.2 vs 62.3  $\pm$  5.1) y aumentaron para (VLDL+LDL) la velocidad de propagación (vP) y valor máximo (vMax) (1.24  $\pm$  0.11 vs 0.86  $\pm$  0.04 MDA/min y 96.0  $\pm$  3.7 vs 70.1  $\pm$  4.4 MDA/mgC); la vMax disminuyó para HDL (75.3  $\pm$  3.8 vs 98.8  $\pm$  3.1 MDA/min) y sin diferencias para vP. Los IRg (CT/HDL-C y TG/HDL-C) aumentaron para F10 (3.30  $\pm$  0.11 vs 2.64  $\pm$  0.16 y 3.20  $\pm$  0.34 vs 1.23  $\pm$  0.17). Conclusión: La DRF induce un aumento de la glicoxidación generando un perfil lipoproteico aterogénico. Estos datos muestran la importancia de una dieta adecuadamente balanceada.

**ML3. Los lípidos neutros nucleares se concentran en dominios funcionales específicos.** Layerenza JP<sup>1</sup>, González P<sup>2</sup>, García de Bravo M<sup>1</sup>, Polo M<sup>1</sup>, Sisti MS<sup>1</sup>, Ves-Losada A<sup>13</sup>. <sup>1</sup>INIBIOLP (CCT-La Plata-CONICET-UNLP); <sup>2</sup>Cát. Patol.-Fac. Cs. Médicas, UNLP & CIC-BsAs; <sup>3</sup>Dpto. Cs. Biol., Fac. Cs. Exactas, UNLP

El núcleo celular (N) es una adquisición evolutiva de la célula eucariota. Posee diferentes dominios funcionales en la matriz (Mx) rodeados por una doble membrana (MN). Hemos determinado que los lípidos representan el 16 % del núcleo, Fosfolípidos (PL): 84% y Lípidos-neutros (LN): 16%, con el siguiente orden porcentual: PtdCho > PtdEtn > TAG > PtdIns > Col > SM/PtdSer >> CE. El objetivo de este trabajo fue determinar la organización de LN nucleares teniendo

en cuenta que representan fuentes alternativas ácidos grasos (AG) y de segundos mensajeros. Con este fin se determinaron los lípidos endonucleares (Mx) y se observó que están enriquecidos en lípidos neutros (PL: 59% y LN: 41%), a saber: TAG > PtdCho > PtdEtn > Col > SM/PtdIns/CE. Los TAG poseen un alto porcentaje de AG monoenoicos mientras que PtdCho está enriquecida en n-6. Se aplicó una técnica de aislamiento de gotas lipídicas (LD) a núcleos aislados de hígado de rata y se aisló una única banda con la siguiente composición de LN: TAG (37%), CE (34%) y Col (28%). Las LD se tiñeron con Rojo-Sudán y OsO<sub>4</sub> (microscopía óptica) y por tinción negativa -TEM. Las LD provenientes de: la banda, núcleo, matriz y nucleoplastos (núcleos sin la membrana externa), estaban constituidas por poblaciones de gotas de diferentes tamaños. En conclusión, en el núcleo, los LN están organizados en dominios discretos, constituidos por un centro hidrofóbico de LN, recubierto por una monocapa de fosfolípidos con proteínas asociadas. En el núcleo las fuentes mayoritarias de AG son, la PtdCho y los TAG, con diferente ubicación nuclear y regulación

**ML4. Acción antiproliferativa y hipocolesterolemiante de un monoterpeno.** Polo M, Crespo, R y García de Bravo, M. INIBIOLP (UNLP-CONICET CCT La Plata) Fac. Cs. Médicas.

El alto consumo de frutas y verduras se ha relacionado inversamente con la posibilidad de padecer enfermedades cardiovasculares y cáncer. La actividad protectora es atribuida en parte a isoprenoides presentes en aceites esenciales. La vía del mevalonato genera productos finales esteroides y no esteroides como colesterol, dolicol, ubiquinona y proteínas preniladas. Previamente reportamos que en células Hep G2 el monoterpeno geraniol inhibe la síntesis de colesterol y la proliferación celular a concentraciones > 10 M y > 100 M respectivamente. Nuestro objetivo fue describir a que nivel de la vía del mevalonato ejerce su efecto sobre la colesterogénesis y la proliferación celular. Células Hep G2 se trataron con geraniol 50 M y 200 M y se determinó proliferación celular, HMG-CoA reductasa, colesterogénesis, prenilación de proteínas y síntesis de fosfatidilcolina (PC). A baja concentración el geraniol no modifica la proliferación, ni la actividad reductasa pero inhibe la conversión de lanosterol en colesterol e incrementa su captación exógena. A alta concentración inhibe además la proliferación celular, la actividad reductasa, la prenilación de proteínas y la síntesis de PC. El geraniol ejercería su efecto a bajas concentraciones por inhibición de la síntesis de colesterol en una etapa posterior al punto de ramificación de la vía. Mientras que el efecto antiproliferativo a altas concentraciones podría atribuirse a la disminución de proteínas preniladas y a la inhibición de síntesis de PC.

## NERVIOSO

**N1. Asimetría en la modulación de la transmisión noradrenérgica por endotelinas exógenas en el hipotálamo anterior de ratas DOCA-Sal.** Abramoff T, Guil MJ, Nabhen S, Hope S, Bianciotti L y Vatta M. Cátedras de Fisiología (IQUMefa-CONICET) y Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. En trabajos previos demostramos que las endotelinas (ETs) modulan la transmisión noradrenérgica en hipotálamo anterior (HA) de ratas normotensas. Sobre esta base, el objetivo del trabajo fue dilucidar los efectos de las ETs aplicadas exógenamente en el HA de ratas

hipertensas DOCA-Sal. Se estudió la expresión de tirosina hidroxilasa (TH) y del transportador de noradrenalina (NET). Los resultados muestran que en HA existe una asimetría del sistema catecolaminérgico entre las hemiporciones derecha (HAD) e izquierda (HAI). Sólo en el HAD se observó una disminución en la cantidad de TH en un 40%. En ambas hemiporciones observamos una disminución de TH-P-Ser40. Además, se encontró un aumento en la cantidad de NET del 30% para el HAD y del 200% para el HAI. Además, las ETs aumentaron la expresión de TH en animales DOCA-Sal en un 100%. Por otra parte, en el HAD ET-3 aumenta la cantidad de NET en un 150%. En cambio en HAI ambas ETs disminuyen la cantidad de NET a valores semejantes a los de animales control. Estos resultados sugieren que en animales DOCA-Sal existe una inhibición del sistema catecolaminérgico en HA, lo cual llevaría a una inhibición de los mecanismos simpato-inhibitorios de este tejido y podría contribuir al desarrollo y/o mantenimiento del estado hipertensivo.

**N2. Neurodegeneración y proteínas involucradas en la homeostasis del cobre.** Arnal N., Cristalli D. O.I, Alaniz María J.T del, and Marra C. A.I\* Arnal N., Cristalli D. O.I, Alaniz María J.T del, and Marra C. A.I\*

Se estudió en plasma la concentración de cobre (Cu), ceruloplasmina (CRP), cobre no ligado a CRP (NCBC) y metalotioneínas (MTs) como posibles biomarcadores de enfermedades neurodegenerativas en pacientes y en sus parientes directos. En los pacientes, encontramos incrementados los niveles de Cu plasmáticos en enfermos de Alzheimer (AD), Parkinson (PD) y en dementes vasculares (VD). En estos últimos, hubo una correlación entre los parámetros medidos y la evolución de la enfermedad. La concentración de CRP también se encontró aumentada en respuesta a los procesos inflamatorios que acompañan a estas patologías. Los cocientes Cu/CRP y Cu/MTs fueron indicativos de la progresión en AD, pero no en PD o VD. A su vez, encontramos una correlación entre los niveles de NCBC y la discapacidad cognitiva estimada a través de la escala MMSE. Esta dependencia fue lineal en AD y PD, y de tipo no lineal en VD. Los valores relativos de NCBC mostraron una dependencia con la duración de la enfermedad, sobre todo para enfermos de AD. Concluimos que todos estos biomarcadores podrían tener utilidad clínica, y que la determinación de Cu y del cociente Cu/CRP podrían ser índices predictivos en parientes directos de pacientes AD.

**N3. Modulación estrogénica de los receptores angiotensinérgicos AT1 (AT1-R) en respuesta a una depleción aguda de agua y sodio corporal.** Dalmasso C., Ponce L., Vivas L. Instituto de Investigación Médica M. Y M. Ferreyra (INIMEC-CONICET)

La angiotensina II (AII), a través de los AT1-R ubicados en la lamina terminalis (LT), estimula la ingesta de agua y sodio, luego de una pérdida aguda de agua y sodio corporal. Asimismo, evidencias de nuestro laboratorio indican que la ovariectomía (OVX) altera dicha conducta ingestiva, así como la actividad cerebral (inmunoreactividad a Fos) en respuesta a una depleción inducida por furosemida y dieta baja en sodio (F/DBS). Considerando estas evidencias, el objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de la ovariectomía y del tratamiento agudo de F/DBS sobre la densidad de AT1-R cerebrales. La densidad de AT1-R se cuantificó por medio de un sistema de detección infrarroja de imágenes (Odyssey Imaging System). Se observó que en hembras en diestro (D) el tratamiento con F/DBS provocó un aumento de la densidad de AT1-R en el órgano

vasculoso de la LT (OVLT) y en el núcleo preóptico mediano (MnPO); mientras que la densidad de dichos receptores disminuyó en el núcleo supraóptico (SON). Por otra parte la ovariectomía produjo una disminución de la densidad basal de AT1-R en el SON y una ausencia de respuesta a la depleción, mientras que en el OVLT se observó una inhibición del aumento inducido por F-DBS. Nuestros resultados sugieren la densidad de los AT1-R cerebrales estaría modulada diferencialmente por la depleción aguda de agua y sodio corporal y el estrógeno circulante. Subsidiado por ANPCyT y CONICET.

**N4. Mecanismos involucrados en la modulación de la captación de Noradrenalina (NA) por Endotelina1 (ET1) en el hipotálamo Anterior(HA).** Hope SI, Abdala AL, Soria CV, Bianciotti LG, Vatta MS. Cátedras de Fisiología, (IQUIMEFA-CONICET) y Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Previamente demostramos que ET1 disminuye la captación neuronal de NA en el HA a través del receptor ET<sub>B</sub>. En el presente trabajo estudiamos las posibles vías intracelulares que median estos efectos. Se usaron HA de ratas SD machos (250-300 g). La captación neuronal de NA se determinó in vitro durante 5 min en presencia o ausencia de ET1 y los inhibidores de diferentes intermediarios intracelulares. Ninguno de los inhibidores utilizados modificaron per se la captación neuronal de NA. Los resultados se expresan como % ± ES (ANOVA y test de SNK; \*p<0.05 y n: 5-8). Los resultados muestran que la inhibición de la captación 1 de NA producida por la ET1 10nM se bloqueó en presencia del inhibidor general de la óxido nítrico sintasa y de su isoforma neuronal (L-NAME10µM, ET-1: 79.6 ± 3.0vsET-1+L-NAME: 103.1 ± 6.5\* y ET-1+7-NI: 102.2 ± 5.6\*, respectivamente). El inhibidor de la PKA, el H-89 también bloqueó el efecto de ET-1 (ET-1: 79.3 ± 3.1vsET-1+H.89: 102.1 ± 2.6\*), mientras que el inhibidor de la PLC no modificó el efecto de la ET-1 (ET-1: 78.0 ± 1.1vsET-1+U73122: 76.2 ± 5.0). Éstos resultados nos permiten concluir que en el HA la disminución de la captación neuronal de NA producido por la ET1 es a través de la vía del óxido nítrico y de AMPc/PKA.

**N5. Papel del Calcio en los efectos a largo plazo de las Endotelinas (ETs) sobre la actividad de la Tirosina Hidroxilasa (TH) en Bulbo Olfatorio (BO) de rata.** Nabhen S, Battistone A, Guil J, Morales V, Bianciotti L & Vatta M. Cátedras de Fisiología, (IQUIMEFA-CONICET) y Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Argentina.

Es conocido que la actividad de la TH se regula por complejos mecanismos entre los que se incluye el calcio. En el presente trabajo estudiamos el papel de los mecanismos calcio dependientes en el incremento a largo plazo producido por las ETs sobre la TH en el BO de ratas normotensas. Los tejidos se incubaron con ET-1 y ET-3 durante 240 min. en presencia y ausencia de la ET-1 y ET-3 (10 pM) y de los diferentes inhibidores de los mecanismos dependientes de calcio. La actividad de TH se determinó por método radioenzimático de Reinhard y col (Life Sci. 1986). Los resultados muestran que ET-1 y ET-3 10 pM, incrementan la actividad de TH (44% y 52% vs. control, respectivamente). Por su parte, se observó que ni el antagonista del receptor de IP<sub>3</sub> (2-APB), ni el inhibidor de la IP<sub>3</sub> quinasa (LY-294002) modificaron la respuesta a las ETs, mientras que el inhibidor de los canales de calcio sensitivos a Rianodina (Dantrolene) modificó el efecto de ambas ETs sobre la actividad de TH. Los resultados nos permiten concluir que a largo plazo el incremento de la actividad producido por las ETs son mediados por los canales Rianodina sensitivos.

**N6. La hormona concentradora de melanina disminuye la actividad de las neuronas del núcleo dorsal del rafe.** Pascovich C., Devera A., Lagos P., Falconi A., y Torterolo P. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

La hormona concentradora de melanina (MCH) es un neuromodulador peptídico presente en neuronas del hipotálamo lateral que proyectan ampliamente en el SNC. Estudios previos de nuestro laboratorio mostraron una importante inervación del núcleo dorsal del rafe (DRN) por fibras MCHérgicas, y que microinyecciones de MCH intra-DRN promueven el sueño y tienen efectos depresivos. Dada la presencia de tanicitos inmunomarcados para MCH en el DRN y la presencia de MCH en el LCR, nuestra hipótesis de trabajo es que además de la vía neural, existiría una vía neurohumoral en que la MCH sería captada desde el ventrículo, transportada por los tanicitos y liberada a través de sus procesos basales para regular la actividad de las neuronas del DRN. En este trabajo determinamos si la inyección intraventricular de MCH tiene un efecto regulador de las neuronas del DRN. En ratas anestesiadas con uretano se realizaron registros extracelulares estándar del DRN, donde se analizaron los efectos de la aplicación intraventricular de MCH. El 70% de las neuronas registradas muestran que la aplicación de MCH (5 µg) en el ventrículo lateral produce una disminución significativa en la frecuencia de descarga con una latencia aproximada de 1,5 minutos y una duración de 3 minutos. Basado en sus características electrofisiológicas estas neuronas son presumiblemente serotoninérgicas.

**N7. Relación entre el tiempo de reacción psicomotora y la actividad autonómica cardíaca en distintos turnos de trabajo** Vigo D.E.<sup>1,4</sup>, Díez J.<sup>2</sup>, Rigters S.<sup>1</sup>, Rogier K.<sup>1</sup>, Pérez Chada D.<sup>2</sup>, Cardinali D.P.<sup>3,4</sup>  
<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires; <sup>2</sup>Universidad Austral; <sup>3</sup>Universidad Católica Argentina; <sup>4</sup>CONICET.

Introducción: El rendimiento en el desempeño de distintas funciones atencionales superiores se ha asociado a distintos patrones de actividad autonómica cardíaca en reposo. Se desconoce si el ritmo circadiano propio de la actividad autonómica modifica esta asociación. Métodos: Se estudiaron 18 colectivos del turno mañana y 30 del turno tarde. A lo largo de cada turno, se valoró en tres oportunidades la actividad autonómica cardíaca en reposo mediante variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) y el tiempo de reacción psicomotora (TRP) mediante un test basado en computadoras palm. Se evaluó la variación del TRP y el impacto del factor turno mediante un ANOVA factorial de medidas repetidas. En ambos turnos, se analizaron correlaciones entre TRP y VFC mediante el test de Pearson. Resultados: El TRP disminuyó significativamente a partir de la segunda medición, sin que el factor turno influyese en forma significativa. En el turno mañana, el predominio parasimpático se asoció significativamente a un enlentecimiento en el TRP. En el turno tarde no se observaron correlaciones significativas entre TRP y VFC. Discusión: Es posible que la interacción de los mecanismos homeostáticos, circadianos y ultradianos del mantenimiento de la vigilia a lo largo del día determinen distinto grado de asociación entre la actividad autonómica y la actividad cognitiva.

**N8. Estudio preliminar del efecto de una dosis única de melatonina sobre regímenes estándar de anestesia en ratas.** Zacharewicz L; Iodice O; Cervino C. Fac. de Medicina, Univ. de Morón.

Diferentes fármacos inyectables han sido utilizados como anestésicos: pentobarbital, tiopental (TP), ketamina (CK), diazepam (DP) y xylacina. Objetivo: evaluar la melatonina (ML) sola y en combinación como agente de inducción anestésico en ratas. Hipótesis: la preme-

dicación con ML puede disminuir la dosis necesaria de anestésicos estándar. Acciones y profundidad anestésica evaluadas como: a) pérdida reflejo enderezamiento (RE) = tiempo inducción anestésica (TIA); b) pérdida reflejos de retirada (RR) = tiempo de plano anestésico (TPA); c) recuperación RR = tiempo duración anestesia (TDA); d) recuperación RE = tiempo recuperación total (TRT). Protocolo:

Grupo	N	Tratamiento	Dosis-Vía
1ML	6	ML sola	15 mg/kg IP
2CK	6	CK sola	50 mg/kg IP
3MK	6	ML + CK combinadas	15 + 50 mg/kg IP
4TP	6	TP sola	40 mg/kg IP
5MT	6	ML + TPS combinadas	15 + 40 mg/kg IP
6DP	6	DP sola	1-2 mg/kg IM
7MD	6	ML + DP separadas	15 + 1-2 mg/kg IP+IM

Grupo 1ML sin inducción anestésica. Grupos 2CK vs 3MK, TIA semejante, pero <TPA (P<0,024) y >TDA (P<0,022), con >TRT (P>0,05). Grupos 4TP vs 5MT variación de TIA y TPA no significativa, >TDA (P<0,05) y >TRT (P>0,05). Grupo 6DP no produjo inducción y ratas 7MD con efectos marcados. Se discuten los resultados sobre la base de las acciones moleculares/celulares de todas las drogas ensayadas y su posible aplicación.

## REPRODUCCIÓN

**R1. Protección de la progesterona (P) sobre la reabsorción embrionaria (RE) inducida por lipopolisacárido (LPS). Participación del LIF y la glicodelina (Gd).** Aisemberg, J., Vercelli, C., Billi, S., Wolfson, M., Cella, M. y Franchi, A. CEFYBO, Buenos Aires, Argentina.

La tolerancia materno-fetal mediada por P incluye la producción de proteínas inmunomoduladoras como Gd y LIF. La administración de LPS (1µg/g) en el día 7 de gestación a hembras BALB/c produce 100% de RE en 24 h. Nuestro objetivo fue estudiar en este modelo alteraciones del mecanismo protector ejercido por P. Determinamos los niveles de P sérica, de ARNm de LIF/Gd y los niveles proteicos de Gd en sitios de implantación. En cultivo la expresión uterina del ARNm de LIF, los niveles de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) y de óxido nítrico (NO) en presencia/ausencia de LPS, P, LIF y anticuerpo anti-LIF. Observamos disminución de la P sérica y que el suplemento hormonal previene la RE (p<0.05). Secuenciamos parcialmente el gen de Gd y encontramos a nivel proteico modulación negativa por LPS (p<0.001). El LPS aumentó la expresión del ARNm de LIF (p<0.01) y la misma regulación positiva observamos al incubar los úteros con P (p<0.05). La hormona y el LIF en cultivo disminuyen los niveles de NO y PGE<sub>2</sub> (p<0.05) inducidos por la endotoxina. La incubación con anticuerpo anti-LIF bloquea el efecto de la P incrementando el NO, lo que indicaría la participación del LIF endógeno. EL efecto protector de la P, crucial para el éxito de la gestación, involucraría proteínas como LIF.

**R2. Diferencia sexual en los efectos de la administración aguda de bisfenol A.** Cardoso N, Pandolfi M, Carbone S, Ponzo O, Penalba R, Lavalle R, Scacchi P, Reynoso R Lab. Endocrinología-Depto Fisiología. Facultad de Medicina UBA. Facultad de Medicina CONICET. Depto Biodiversidad y Biología Experimental. FCEyN. UBA

En el presente trabajo estudiamos el efecto de la administración aguda de BPA sobre el eje reproductor de ratas macho y hembra prepúberes. Se administró a los animales etanol 0.1%, grupo control y BPA en el agua de



bebida, dosis aproximada de exposición (DAE)=3g/kg/día, n=10/grupo) desde el día 21 de vida y hasta los 30 días (hembras) y 35 días (machos). Se determinó LH, FSH, en suero (RIA,ng/ml) y liberación de Gn-RH, (RIA: pg/HMB) de fragmentos de hipotálamo medio basal. Se realizó estudio histológico de cortes de ovario, útero y testículo. En hembras ninguno de los parámetros estudiados sufrieron cambios (LH control:  $4.2 \pm 0.4$  vs BPA:  $4.4 \pm 0.5$ , FSH control:  $94 \pm 8$  vs BPA:  $80 \pm 13$ , Gn-RH control:  $1.4 \pm 0.4$  vs BPA:  $1.5 \pm 0.3$ ). Los estudios histológicos de ovario y útero no mostraron diferencias morfológicas ni morfométricas en ratas tratadas. En machos, los niveles de FSH disminuyeron significativamente, (control:  $121 \pm 12$  vs BPA:  $70 \pm 5.0$ ,  $p < 0.001$ ), mientras los de LH y la liberación de Gn-RH no sufrieron cambios con el tratamiento. El estudio histológico de testículo, mostró en animales tratados progreso normal de la meiosis y aproximadamente un 10% de secciones de túbulos seminíferos conteniendo solamente Células de Sertoli, sin células de la serie espermática y un número mayor de espermatogonias. Los resultados sugieren una diferencia sexual en los efectos de BPA.

**R3. La hiperinsulinemia puede alterar la expresión de Caveolina-1 en placentas preeclámpticas.** Dietrich V<sup>1</sup>, Reza A<sup>1</sup>, Castro-Parodi M<sup>1</sup>, Szpilbarg N<sup>1</sup>, Maskin B<sup>2</sup>, Damiano AE<sup>1</sup>: <sup>1</sup>Lab. Biología de la Reproducción, Cátedra de Biología Celular, Depto.Cs. Biológicas, F. Farmacia y Bioquímica, UBA <sup>2</sup>Hospital Nacional "Prof. Dr. Alejandro Posadas".

El intercambio materno-fetal se realiza a través del sincitiotrofoblasto por medio de transportadores específicos, muchos de los cuales están inmersos en la membrana lipídica en estructuras conocidas como caveolas. Éstas son microdominios de membrana enriquecidos en esfingomielina y colesterol que expresan Caveolina-1 (Cav-1), proteína que no sólo es componente estructural sino que interviene en el transporte de vesículas. En ensayos previos informamos que en preeclampsia la composición lipídica de la membrana de sincitiotrofoblasto se encuentra alterada, observándose un aumento de esfingomielina (generando una membrana más rígida) y una disminución en la expresión de Cav-1. Muchas pacientes con preeclampsia cursan con hiperinsulinemia, donde la insulina juega un rol clave en la señalización de un sinnúmero de procesos. Se vio que ésta altera la composición fosfolipídica de la membrana, pero a altas dosis, parece no tener efecto. Aquí, estudiamos si la insulina interviene en la regulación de la expresión de Cav-1 en placenta humana. Para ello se cultivaron explantos de placentas normales con distintas dosis de insulina y se determinó la expresión y localización de Cav-1. El tratamiento con insulina disminuyó la expresión de Cav-1 de manera dosis-dependiente acompañado de una disminución de su localización en membrana apical. Sin embargo, a altas dosis no se observaron cambios aunque la localización en membrana apical fue casi indetectable. Estos resultados sugieren que la insulina podría alterar la expresión y localización de Cav-1 en sincitiotrofoblasto de placentas preeclámpticas que cursan con hiperinsulinemia.

**R4. Participación de los endocannabinoides en la interacción espermatozoide-oviducto** Gervasi MG, Osycka C y Perez-Martinez S CEFYBO/CONICET, Buenos-Aires-Argentina

Los espermatozoides de mamíferos deben sufrir cambios dentro del tracto reproductor de la hembra para adquirir capacidad fecundante. La adhesión de los espermatozoides al oviducto es beneficiosa para

seleccionar aquellos con alta calidad. La capacitación espermática es una de las posibles causas de la liberación de los espermatozoides del epitelio oviductal (CEO). Los endocannabinoides comprenden una nueva clase de mediadores lipídicos y la anandamida es el más estudiado en la fisiología reproductiva. Objetivos 1) caracterizar al sistema endocannabinoide en espermatozoide y oviducto bovino; 2) estudiar la participación de la anandamida en la regulación de la interacción espermatozoide-CEO. En nuestro laboratorio, hemos desarrollado un modelo *in vitro* para estudiar la interacción espermatozoide-CEO en bovinos. Nuestros resultados indican que tanto los espermatozoides como el oviducto expresan los receptores CB1, CB2 y TRPV1, la enzima FAAH (degrada anandamida) y que el oviducto bovino es capaz de sintetizar anandamida. A su vez, la anandamida y/o su análogo estable Met-anandamida participan en la interacción espermatozoide-CEO ya sea inhibiendo la unión como liberando a los espermatozoides de las células del epitelio oviductal por activación de los receptores CB1 y TRPV1. Además los resultados sugieren que la anandamida favorecería la capacitación espermática en bovinos y que podría actuar en la misma vía de acción que la heparina promoviendo de esta manera la liberación de los ESP almacenados en el reservorio oviductal para permitir la llegada al sitio de fecundación en el momento adecuado.

**R5. Caracterización de la Frecuencia de Batido Ciliar (FBC) del epitelio oviductal bovino: posible regulación por anandamida.** Gervasi, M.G.<sup>1</sup>; Osycka-Salut, C.<sup>1</sup>; Lladós, C.<sup>2</sup>; Villalón, M.<sup>2</sup>; Perez-Martinez, S.<sup>1</sup> <sup>1</sup> CEFYBO-Conicet, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> PUC, Santiago de Chile, Chile.

El movimiento de las cilias del epitelio oviductal es un requerimiento importante para que ocurra el transporte de gametas y de embriones en el oviducto. La FBC de las células ciliadas se modifica en respuesta a diversos estímulos. La anandamida es un *endocannabinoide* que participa en la mayoría de los procesos reproductivos. Por ello nos propusimos: (1) caracterizar la FBC en epitelio oviductal bovino, (2) investigar si la anandamida regula la FBC. Se utilizaron cultivos de epitelio de ampolla e istmo de oviducto bovino. Los mismos se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido y se determinó la FBC basal por la técnica de microfotodensitometría. Además se evaluó la FBC en cultivos incubados con concentraciones crecientes de anandamida en ambas regiones del oviducto. Los datos se expresaron como área bajo la curva. La FBC basal fue similar en las 2 regiones del epitelio oviductal analizadas (istmo:  $15,90 \pm 0,39\text{Hz}$ ; ampolla:  $15,22 \pm 0,65\text{Hz}$ ). La FBC de las células ciliadas de la ampolla incrementó en respuesta a anandamida (control:  $81,69 \pm 23,68$ ; anandamida (1nM):  $194,99 \pm 19,32$ ; y anandamida (100nM):  $226,81 \pm 68,38$ ;  $p < 0,05$ ) mientras que la del istmo fue similar al control. Estos resultados indican que no hay diferencias en la FBC basal a lo largo del oviducto bovino y que existe una respuesta diferencial a la anandamida sugiriendo la posible participación de este *endocannabinoide* en el transporte oviductal en esta especie.

**R6. Anandamida modula el sistema prostanoide en placenta humana.** Grassetti M.; Cella M.; Sordelli M.; Ribeiro M.L.; Franchi A.; Farina M. CEFYBO (CONICET) Facultad de Medicina (UBA).

Las prostaglandinas (PGs) se sintetizan a partir del ácido araquidónico (AA) por las ciclooxigenasas (COX1 y COX-2) y son metabolizadas por la 15-hidroxi prostaglandina deshidrogenasa (PGDH). El sistema de endo-cannabinoides y sus receptores (CB) se han descrito en la placenta

humana. Recientemente se ha demostrado que la anandamida (AEA), uno de los principales endocannabinoides, modula la síntesis de PGs en amnios humano. Nuestro objetivo fue analizar el efecto de la AEA sobre el sistema prostanoide (COXs/PGs/PGDH) en placenta humana. Se cultivaron explantos de vellosidades coriónicas provenientes de placentas obtenidas de mujeres con embarazos sin complicaciones, luego de cesáreas electivas a término (38-40 semanas de gestación). Se realizó una curva concentración-respuesta y en el tiempo del efecto de AEA ( $10^{-10}$ -  $10^{-6}$  M) sobre la producción de PGs. La incubación de explantos de placenta humana con concentraciones nanomolares de AEA disminuyó la síntesis de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2</sub> alfa, cuantificadas por radioinmunoanálisis (RIA). Así mismo se detectó por western blot la expresión de COX-2 y PGDH en explantos de placenta a término. Observamos que la AEA ( $10^{-9}$  M) aumentó la expresión proteica de PGDH mientras que disminuyó la expresión de COX-2. Los resultados obtenidos sugieren que la AEA, en concentraciones fisiológicas, es capaz de regular el sistema prostanoide en placenta humana al término de la gestación.

**R7. Cambios en la composición lipídica de la membrana del sinciotrofoblasto mediados por insulina.** Reza A<sup>1</sup>, Castro-Parodi M<sup>1</sup>, Dietrich V<sup>1</sup>, Rodríguez C<sup>1</sup>, Szpilbarg N<sup>1</sup>, Maskin B<sup>2</sup>, Damiano AE<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Lab. Biología de la Reproducción, Cátedra Biología Celular, Depto. Cs. Biológicas, F. Farmacia y Bioquímica, UBA <sup>2</sup>Hospital Nacional "Prof. Dr. Alejandro Posadas" Durante el desarrollo gestacional la composición lipídica del sinciotrofoblasto se modifica para satisfacer las necesidades metabólicas del feto en crecimiento. Previamente informamos que la membrana plasmática del sinciotrofoblasto de placentas preeclámpticas tiene una mayor rigidez debido a un incremento en esfingomiélin. Dado que se observaron elevados niveles plasmáticos de insulina en mujeres preeclámpticas es posible que esta hormona este involucrada en los cambios observados en el sinciotrofoblasto. Nuestro objetivo fue estudiar si la insulina puede afectar la composición lipídica del sinciotrofoblasto. Explantos de placentas normales (n=7) fueron cultivados en presencia de distintas concentraciones de insulina (1,10 y 100uUI/mL) durante 24hs. Vesículas de membranas apicales y basales fueron obtenidas por centrifugación diferencial. Los lípidos se extrajeron por medio del método de Bligh & Dyer y se cuantificaron por Fiske-Subarow. Para la determinación de colesterol se utilizó un método enzimático. En ningún caso se observaron cambios en los niveles de colesterol. Sin embargo, el contenido de fosfolípidos totales en membranas apicales disminuyó a 1uUI/mL de insulina y luego aumento significativamente de manera dosis dependiente, mientras que en membranas basales observamos un aumento dosis dependiente hasta alcanzar un *plateau* a 100uUI/mL. Estos cambios se correlacionaron con el índice fosfolípidos/colesterol indicando modificaciones en la fluidez de la membrana al aumentar la dosis de insulina. Estos resultados sugieren que esta hormona podría alterar la composición fosfolipídica del sinciotrofoblasto pudiendo tener un rol en la patogénesis de la preeclampsia.

**R8. Mediadores lipídicos involucrados en la implantación.** Sordelli MS, Farina MG, Cella M, Franchi AM, Ribeiro ML. CEFYBO (CONICET-Fac. de Medicina, UBA). Se ha sugerido la participación de moléculas lipídicas en el establecimiento de la preñez. En nuestro laboratorio observamos que la síntesis de anandamida, un endocannabinoide, y la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) están moduladas durante la implantación en el útero

de rata. El sistema endocannabinoide se expresa durante dicho período. La anandamida inhibe la NOS vía los receptores de cannabinoides tipo 2 ( $p<0.001$ ). Las PGs y la anandamida se han descrito como importantes mediadores de la invasión embrionaria. De hecho, observamos que las prostaglandinas (PGs) parecen mediar el efecto inhibitorio de la anandamida sobre el óxido nítrico. Otros autores informaron que ratones knock out para el receptor LPA3, uno de los receptores del ácido lisofosfatídico (LPA), presentan deficiencias en la implantación. Por lo tanto, estudiamos el efecto del LPA sobre mediadores que participan en la implantación en la rata. Observamos que la expresión del LPA3 está modulada en el útero de rata durante la gestación temprana. La incubación con LPA aumentó la expresión de la FAAH ( $p<0.05$ ), la enzima que degrada la anandamida, incrementó la expresión de la COX-2 ( $p<0.05$ ) y la producción de PGE<sub>2</sub> ( $2,1 \pm 0,1$  vs  $2,7 \pm 0,2$  pgPGE<sub>2</sub>/mg ph,  $p<0.05$ ). Además, el LPA indujo la expresión de IGFBP-1, un marcador de decidualización. Estos resultados sugieren la participación de la anandamida, las PGs y el LPA como potentes mediadores lipídicos que favorecerían la implantación del embrión.

## SANGRE E INMUNIDAD

**S11. Caracterización del intercambio  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  en neutrófilos humanos.** Giambelluca, MS; Gende, OA. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. CCT-Conicet La Plata, UNLP

Se utilizaron neutrófilos cargados con el indicador fluorescente BCECF para caracterizar el intercambiador aniónico  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  (AE). La transferencia de un medio con  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$  a otra solución amortiguadora libre de  $\text{Cl}^-$  produjo un aumento del pH citosólico (pHi). El agregado de NaCl 50 mM (concentración final) provocó la recuperación del pHi con una velocidad (en unidades de  $\text{pH}/\text{seg} \cdot 10^4$ ) de  $9 \pm 2$  en el control y  $0.5 \pm 0.7$  ( $P<0.02$ ) cuando se inhibió la anhidrasa carbónica con metazolamida 1 mM. Trimetilamina 25 mM provocó una alcalinización intracelular de la que se recuperaron con una velocidad de  $8 \pm 1$  en el control y  $5 \pm 1$  en metazolamida 1 mM ( $P<0.05$ ). El bloqueo del intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  con EIPA 2  $\mu\text{M}$  no afectó esta respuesta. En neutrófilos alcalinizados por lavado del  $\text{CO}_2$ , la reintroducción de NaCl en presencia de EIPA redujo el pHi con una velocidad de  $6.6 \pm 0.2$  en el control y de  $12 \pm 1$  ( $P<0.05$ ) con el agente quimiotáctico fMLP 0.1  $\mu\text{M}$ . Se concluye que en los neutrófilos el AE está asociado funcionalmente a la anhidrasa carbónica sugiriendo la existencia de un metabolito que agrupa ambos sistemas, como se ha descrito para otras células. Además se demuestra que el fMLP, que activa el intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  frente a una sobrecarga ácida, también es capaz de activar directamente el AE frente a sobrecargas alcalinizantes.

**S12. Secreción hipoxia-dependiente de eritropoyetina en ratones policitémicos: el enigma posthipóxico.** Martínez, MP. Conti, MI. Barceló, AC. Bozzini, CE. Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, UBA. La policitemia innecesaria induce hipereritropoyesis y suprime la secreción hipóxica de eritropoyetina (EPO). Ese estado puede ser alcanzado mediante varios procedimientos, empleados en esta investigación para comparar la secreción hipóxica de EPO en ratones adultos CF#1 hembras. Estimando la masa roja circulante (MRC) mediante dilución isotópica se calculó que los ratones experimentales debían ser transfundidos con 1,33ml de eritrocitos (PTR), o expuestos a 6350m x 2sem (PHP), o inyectados con 5,55UI/d x 10d de rhEPO

(PEPO) para incrementar 80% la MRC. Ratones así tratados fueron expuestos a Torr 337mmHg x 6h, observándose que la policitemia no inhibió la secreción de EPO en los PHP. En otros animales, la policitemia fue inducida mediante exposición a 0,1% COx15d, comparándose la respuesta a hipobaría con la de ratones PTR o PEPO. La masa hemoglobínica funcional fue similar en los 3 grupos, así como la inhibición de la secreción hipóxica de EPO. En otro grupo se indujo estado hemolítico crónico mediante administración de fenilhidrazina durante 21d, siendo entonces transfundidos. La secreción hipóxica de EPO fue inhibida por la policitemia generada. El análisis de estos resultados sugiere que la hipersecreción hipóxica de EPO en el ratón con policitemia posthipóxica no reconoce como causas a) la estimulación previa de la eritropoyesis, b) la hipereritropoyetinemias crónicas, o c) el estado policitémico crónico. Aparece así como causa responsable la exposición previa a hipoxia hipobárica, cuyo mecanismo de acción permanece como un enigma. *UBACYT 0-05*.

### SI3. Rol de factores celulares sobre agregación eritrocitaria en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES).

<sup>1</sup>Spengler, M.I.; <sup>2</sup>Svetaz, M.J.; <sup>3</sup>Leroux, B.; <sup>1</sup>Petrelli, D.; <sup>1</sup>Van Isseldk, F.; <sup>1</sup>Bosch, P.; <sup>1</sup>Parente, F.; <sup>1</sup>Bertoluzzo, S.; <sup>1</sup>Carrara, P. <sup>1</sup>Cát. Física Biológica, Fac.Cs Médicas; <sup>2</sup>Inmunidad Celular, Dpto Bqca Clín., Fac.Cs Bioq., UNR, En este trabajo se estudió la agregación eritrocitaria (AE), el índice de rigidez eritrocitaria (IR) y la fluidez lipídica de la membrana eritrocitaria (FL) en 26 mujeres con LES y 27 dadoras sanas. La AE se estimó midiendo la variación, en el tiempo, de la luz transmitida a través de una muestra de sangre entera, dando 2 parámetros que estiman:  $s_0/n_0$ : el tamaño de agregados y  $2k_2n_0$ : velocidad del proceso; IR se midió por filtración, FL por polarización por fluorescencia. La anisotropía ( $r$ ) se relaciona inversamente con FL. Se utilizó  $t$  de Student y coeficiente de correlación de Pearson. Los resultados mostraron que las mujeres con LES presentaban valores significativamente mayores respecto de los controles de:  $s_0/n_0$  ( $1,89 \pm 0,05$  vs  $1,80 \pm 0,07$ ,  $p < 0,02$ ),  $2k_2n_0$  ( $1,04 \pm 0,71$  vs  $0,75 \pm 0,61$ ,  $p < 0,05$ ), IR ( $9,84 \pm 4,78$  vs  $7,11 \pm 1,26$ ,  $p < 0,05$ ),  $r$  ( $0,18 \pm 0,03$  vs  $0,15 \pm 0,01$ ,  $p < 0,001$ ). Se encontró correlación estadísticamente significativa entre IR y  $r$  ( $r_s = 0,57$ ;  $p < 0,005$ ), IR y  $2k_2n_0$  ( $r_s = -0,37$ ;  $p < 0,05$ ). Estos resultados nos permiten inferir que: la pérdida de FL podría ser causa del aumento en IR; la AE está aumentada pero los factores celulares no son la causa ya que la rigidez eritrocitaria disminuye la velocidad de agregación

## SISTEMA ÓSEO Y METABOLISMO MINERAL

**SM1. Efectos in vitro e in vivo de la Metformina sobre la actividad osteoclástica.** Arnol V, Cortizo AM, Molinuolo MS, Gangoiti MV, Felice JI, Schurman L, Sedlinsky C y McCarthy AD. Grupo de Investigación en Osteopatías y Metabolismo Mineral (GIOMM), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. La Plata.

Previamente demostramos que la Metformina, un fármaco insulino-sensibilizante, ejerce efectos osteogénicos directos in vitro e in vivo. Dado que el proceso de modelado/remodelado óseo requiere un acoplamiento preciso entre su resorción y formación, en el presente trabajo evaluamos el efecto de la Metformina sobre la actividad osteoclástica. Para ello, se co-cultivaron osteoblastos de rata UMR106 con macrófagos de rata

RAW 264.7 durante una semana, en presencia de concentraciones crecientes de Metformina (0-500  $\mu$ M). Se dosó la actividad de TRAP (fosfatasa ácida tartrato resistente) en el lisado celular total, como marcador del número de osteoclastos funcionales. En otros experimentos se utilizaron ratas Sprague Dawley macho jóvenes, a las cuales se les realizó un defecto circular de 1mm en el hueso parietal derecho. Se les agregó o no Metformina en el agua de bebida (100mg/kg peso/día) durante 2 semanas. La actividad osteoclástica se evaluó cualitativamente mediante histoquímica para TRAP en cortes histológicos del defecto parietal. Las ratas tratadas con Metformina presentaron un incremento de células TRAP(+) multinucleadas en los bordes de la lesión y rodeando astillas óseas. En el co-cultivo, la Metformina (0-500  $\mu$ M) aumentó la actividad TRAP en forma dosis respuesta (100-363% del basal). Estos resultados in vitro e in vivo muestran por primera vez una estimulación dosis-dependiente y directa de la Metformina sobre la actividad de osteoclastos. Un mayor reclutamiento y actividad de osteoclastos podría contribuir, en las primeras etapas de la reparación ósea, a acelerar la preparación de la superficie ósea lesionada para la futura acción osteogénica de los osteoblastos.

**SM2. Respuesta biomecánica femoral a distintas concentraciones de proteína dietaria.** Bozzini C, Olivera MI, Huygens P, Ossola C, Champin G, Bozzini CE, Alippi RM. Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, UBA

Los animales infantiles y jóvenes transcurren por períodos críticos durante el proceso de crecimiento y desarrollo influenciados, entre otros, por la malnutrición proteica. Estudios previos demostraron que la restricción proteica extrema reduce la resistencia y la rigidez de la diáfisis femoral en la rata. El propósito de este trabajo fue analizar el efecto de dietas isocalóricas conteniendo distinta concentración de proteína (P=Caseína, 5-10-15-20%) suministradas a ratas de 30 días de edad, durante 60 días para establecer la dieta óptima que asegure un adecuado comportamiento mecánico. En el día 60 los fémures fueron sometidos a un test de flexión a 3 puntos, cargados centralmente a 10 N/min con el objeto de registrar las curvas carga (Q) deformación (d). Los huesos C5-10% mostraron menor resistencia a la flexión y rigidez diafisaria con respecto a C 15-20%. Estas alteraciones se correlacionaron con modificaciones del área total, medular y cortical, deterioro del momento de inercia de la sección fracturaria (CSMI) y menor contenido mineral óseo (BMC) y densidad mineral ósea (BMD) determinados mediante absorciometría de doble haz de rayos X. Sin embargo no se afectó el stress elástico máximo ( $S_y$ ), propiedad mecánica intrínseca del material óseo. Los grupos C 15-20% no evidenciaron diferencias significativas en las variables biomecánicas estudiadas. La ausencia de diferencias entre ambos sugiere que una concentración dietaria de C15% es apropiada para asegurar un adecuado performance biomecánico. *UBACYT 0 002*

**SM3. Efecto de la hipoxia sobre las propiedades biomecánicas del tejido óseo mandibular y femoral de la rata prepúber intoxicada con aluminio.** Dmytrenko, G. Conti, MI. Olivera, MI. Bozzini, C. Champin, G. Martínez, MP. Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología.UBA.

La intoxicación crónica con aluminio (Al) afecta la síntesis de colágeno y la mineralización de la matriz ósea. La hipoxia conduce a hipertrofia de la médula ósea y deterioro de la competencia biomecánica del hueso. El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de la hipoxia hipobárica sobre la estructura y

calidad biomecánica de la diáfisis femoral y el tejido óseo mandibular, como ejemplos de hueso apendicular y axial respectivamente, en ratas en crecimiento intoxicadas con Al. Ratas hembra al destete fueron inyectadas en dosis de 27mg de Al elemental por Kg, durante 3 meses 3 veces por semana. Ratas control fueron inyectadas con vehículo. La mitad de cada grupo fue mantenida en hipoxia. Los tratamientos por separado en fémur disminuyeron significativamente las propiedades materiales intrínsecas del hueso, e incrementaron el momento de inercia ( $p < 0.01$ ), indicador geométrico de la eficiencia del diseño seccional. En las mandíbulas, todos los grupos experimentales aumentaron significativamente la rigidez ósea extrínseca, disminuyendo la capacidad de absorber energía elásticamente. Así, en las mandíbulas de los animales tratados con Al, se observó menor capacidad de soportar cargas sin observarse efecto sinérgico de ambos tratamientos. No se observaron variaciones arquitectónicas posiblemente debido a que a diferencia del fémur no debe soportar peso sino adecuarse a fuerzas masticatorias. UBACyT O407.

**SM4. Desarrollo de osteoclastos en cultivo: efectos de productos de glicación avanzada y bisfosfonatos** Gangioiti, MV, McCarthy, A.D., Cortizo, A.M. Grupo de Investigación en Osteopatías y Metabolismo Mineral (GIOMM), Depto. Ciencias Biológicas, F.Ciencias Exactas, UNLP.

Los osteoclastos (Oc) son células gigantes multinucleadas encargadas de resorber en hueso. Aparecen raramente en el hueso intacto pero aumentan en áreas de alto recambio óseo (plato de crecimiento, fracturas). En la diabetes mellitus se han descrito un incremento en el riesgo de fracturas. Nuestro grupo y otros demostramos que estas alteraciones podrían asociarse a la presencia de productos de glicación avanzada (AGEs) que alteran la función de los osteoclastos. Por otro lado los bisfosfonatos (BP) son drogas ampliamente usadas en enfermedades óseas, dado que inhiben la actividad resorptiva de los Oc. En este trabajo estudiamos el efecto de AGEs y BP sobre el desarrollo de Oc en cultivo. Se cultivaron macrófagos Raw264.7 y osteoblastos UMR106 (2-10 días) en presencia de diferentes dosis de BSA ó AGE-BSA (50-200  $\mu\text{g/ml}$ ), con o sin diferentes dosis ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M) de alendronato. La actividad de Oc se evaluó a través de la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP). AGE-BSA agregado a los 4 días de desarrollo de Oc inhibieron (10-30%) en forma dosis dependiente la TRAP. Bajas dosis de Alendronato ( $10^{-8}$ - $10^{-6}$  M) no indujeron efecto sobre la actividad de TRAP en presencia de (100  $\mu\text{g/ml}$ ) BSA ó AGE-BSA. Sin embargo, altos niveles de alendronato ( $10^{-5}$ - $10^{-4}$  M) inhibieron la TRAP en cultivos de 4 días de exposición a 100  $\mu\text{g/ml}$  BSA (20-25% inhibición) ó 100  $\mu\text{g/ml}$  AGE-BSA (17% inhibición). No se observaron efectos aditivos de ambos agentes. La osteoclastogénesis fue más inhibida si los AGEs se agregan en los primeros días de desarrollo de Oc.

**SM5. Eficacia intrínseca diferencial del propranolol en la competencia mecánica del fémur en un modelo animal de desnutrición armónica.** Lezón Ch, Bozzini C, Olivera M, Champín G, Alippi R, Boyer P. Cátedra de Fisiología, FOUBA, UBA.

Se estudió en un modelo animal de desnutrición armónica (ED) el efecto de diferentes dosis de Propranolol (P) sobre la morfometría y biomecánica (test de flexión a tres puntos) del fémur. Ratas macho de la cepa Wistar de 21 días se dividieron en Control (C), C+P3.5 (CP3.5), C+P7 (CP7), C +P10.5 (CP10.5), C+P14 (CP14), ED, ED+ P3.5 (EDP3.5), ED+P7 (EDP7), ED+P10.5 (EDP10.5) y ED+P14 (EDP14). C con/sin P fueron alimentados *ad libitum*; ED con/sin P recibieron un

80% de la dieta de C (4 semanas; T4). P 3.5, 7, 10.5 y 14 mg/Kg/día fue inyectado ip por 4 semanas en CP3.5 y EDP3.5, CP7 y ED7, CP10.5 y EDP10.5 y CP14 y EDP14, respectivamente. La restricción global afectó negativamente el crecimiento corporal ( $p < 0.001$ ), del fémur ( $p < 0.05$ ) y las propiedades estructurales y geométricas óseas ( $p < 0.001$ ). Ninguna dosis de P modificó los parámetros morfo-antropométricos. A 3.5 y 14 mg/Kg/día, P no previno los efectos negativos del estrés nutricional sobre la aptitud mecánica. P mejoró la competencia biomecánica ósea en ED con 7 y 10.5 mg/Kg/día, con un máximo de respuesta a 7mg/kg/día ( $p < 0.001$ ). Se sugiere que la eficacia intrínseca diferencial del P sobre la competencia mecánica ósea del ED sería resultado de la interacción ligando-receptor-cascada de señalización intracelular y/o de la regulación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos, efectos dosis-dependientes. UBACyT O004.

## SISTEMA RENAL

**SR1. El NO aumenta la activación del promotor de acuaporina-2 mediada por NFATc.** Albertoni Borghese, MF #, Bettini, LM \*, de Frutos, S \*, Majowicz, M #, Vidal, N#, Gonzalez Bosc, L\*. #Cátedra de Biología Celular y Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. \*Cell Biology and Physiology, School of Medicine, University of New Mexico, Albuquerque, USA.

El factor de transcripción NFATc3, regulado por  $\text{Ca}^{2+}$ /calcineurina modula la expresión de acuaporina 2 (AQP2) en las células de los túbulos colectores renales. El óxido nítrico (NO) también está implicado en la regulación de AQP2. En este trabajo investigamos si el NO afecta la regulación mediada por NFATc3 del promotor de AQP2. Se cotransfectaron células MDCK con un plásmido reportero de luciferasa que contiene el promotor de AQP2 y con un plásmido reportero renilla luciferasa (control interno). Las células se trataron durante 24hs con Ionomicina (10  $\mu\text{M}$ , ionóforo de calcio, activador de NFATc) y acetato de miristato forbol (PMA 100 nM, activador de AP-1, cofactor de NFATc) en presencia o ausencia de un dador de NO (NONOato 0,1mM) y con o sin ciclosporina A (CsA 1  $\mu\text{M}$ , inhibidor de calcineurina) u ODQ (10  $\mu\text{M}$ , inhibidor de la guanilil ciclasa soluble). La actividad del promotor de AQP2 aumentó en las células tratadas con lo + PMA ( $2.072 \pm 0.072^*$ ) y aumentó aún más con el agregado de NONOato ( $2.797 \pm 0.168^{* \&}$ ). Este aumento adicional fue bloqueado previa incubación con CsA ( $1.966 \pm 0.138^{* \#}$ ) u ODQ ( $2.010 \pm 0.072^{* \#}$ ). \* $p < 0.05$  vs. Control= $1.000 \pm 0.019$ , # $p < 0.05$  vs. NO+lo+PMA, & $p < 0.05$  vs. lo+PMA. El dador de NO no tuvo efecto *per se*. En las células MDCK transfectadas, el NO a través del GMPc, activaría al promotor de AQP2 sinérgicamente con lo+PMA. Es posible que el NO incremente el ingreso de NFATc3 al núcleo o reduzca su salida, potenciando así el aumento de la actividad del promotor de AQP2 producido por NFATc3.

**SR2. La dieta hipersódica induce la expresión de marcadores de hipoxia y fibrosis renal en ratas normales, asociada al estrés oxidativo.** Cao<sup>&</sup> G, Rosón MI\*, Della Penna\* S, Gorzalczy S\*, Pandolfo M\*, Cerrudo C\*, Toblli JE<sup>&</sup>, Fernández BE\*. \*F de Farmacia y Bioquímica-INFIBIOC (UBA)-CONICET, <sup>&</sup>Laboratorio de Medicina Experimental, Hospital Alemán<sup>&</sup>.

Se investigó la participación de la angiotensina II (AngII) intrarrenal y el estrés oxidativo sobre los procesos de hipoxia y fibrosis renal provocados por una sobrecarga



crónica de sodio. Se estudiaron ratas Sprague Dawley alimentadas 3 semanas con dieta normosódica (NS, NaCl 0,4%), hipersódica (HS, 8%NaCl) con y sin administración de tempol (T), un mimético de la superóxido dismutasa que actúa como antioxidante barredor del anión superóxido, en el agua de bebida (NS-T y HS-T respectivamente). Se estudiaron función glomerular y expresión renal de marcadores de hipoxia HIF-1 $\alpha$ , de profibrogénesis TGF- $\beta$ 1 y  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA), y de AngII por inmunohistoquímica. En el grupo HS aumentó la natriuresis ( $p < 0,05$ ) y la expresión de TGF- $\beta$ 1 en el nefrón distal ( $p < 0,001$ ) y de  $\alpha$ -SMA en corteza y médula renal ( $p < 0,001$ ). La inmunotinción de HIF-1 $\alpha$  se incrementó a lo largo de todos los túbulos renales ( $P < 0,001$ ), pero la expresión de AngII solo aumentó en túbulo proximal ( $p < 0,001$ ). La administración de T aumentó la filtración glomerular y previno los cambios observados en los marcadores estudiados. Se concluye que la administración de una dieta hipersódica induce hipoxia renal y una respuesta profibrótica precoz en el riñón de rata asociada al estrés oxidativo, pero no relacionada con el aumento de la expresión de AngII local.

**SR3. La inhibición del estrés oxidativo es más eficaz que el bloqueo AT<sub>1</sub> para prevenir la respuesta inflamatoria renal a una sobrecarga aguda de sodio.**

Cao G<sup>&</sup>, Rosón MI\*, Della Penna\* S, Gorzalczy S\*, Pandolfo M\*, Cerrudo C\*, Toblli JE<sup>&</sup>, Fernández BE\*. F de Farmacia y Bioquímica-INFIBIOC (UBA)-CONICET, <sup>&</sup>Laboratorio de Medicina Experimental, Hospital Alemán<sup>&</sup>.

Se investigó la participación de la angiotensina II (AngII) intrarrenal y el estrés oxidativo en la expresión de citoquinas pro-inflamatorias y pro-fibróticas en ratas Sprague Dawley sometidas a una sobrecarga aguda de sodio por infusión durante 2hs a 0,04ml/min. Se estudiaron 4 grupos: grupo Control (NaCl 0, 15M), Na (NaCl 1,0M), Na-Temp (NaCl 1,0M+tempol 50  $\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 100\text{g peso}^{-1}$ ) y Na-Los: (NaCl 1,0M+ losartán 10mg.kg<sup>-1</sup> en bolo). Se determinaron presión arterial media, parámetros de función renal y expresión renal intratubular de Ang II, factor inducible por hipoxia (HIF-1 $\alpha$ ), RANTES, NF- $\kappa$ B, y factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) por inmunohistoquímica. Resultados: El losartán, antagonista de los receptores AT<sub>1</sub> de la AngII, tuvo mayor efecto diurético e igual efecto natriurético que el tempol, mimético de la superóxido dismutasa que actúa como agente antioxidante. La mayor inmunoexpresión de AngII, HIF-1 $\alpha$  y NF- $\kappa$ B en túbulo proximales y conductos colectores del grupo Na fue inhibida por losartán y tempol ( $p < 0,001$ ). La expresión de RANTES y TGF- $\beta$ 1 fue inhibida solo por el tempol ( $p < 0,001$ ). Se concluye que la AngII y el estrés oxidativo están implicados en la activación de factores de transcripción por a una sobrecarga de sodio agudo; sin embargo, solo el tempol es eficaz para prevenir la expresión de inflamación y fibrosis.

**SR4. Respuesta a la hipoxia mediada por hepcidina de ferroportina duodenal y renal.** DAnna MC, Veuthey TV, Roque ME. Fisiología Humana. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur-CONICET.

Hepcidina controla la red de proteínas responsables de la movilización celular del Fe. Si bien se conoce que en macrófagos Hepcidina regula negativamente a Ferroportina (MTP1), no existen evidencias claras sobre la relación entre Hepcidina y MTP1 en duodeno y riñón. Nuestro objetivo fue esclarecer en hipoxia la respuesta del exportador MTP1, receptor de Hepcidina, en riñón y duodeno con exceso de Fe. Se utilizó un Modelo

Acoplado que se desarrolló induciendo Sobrecarga de Fe seguida de Hipoxia. Ratonos CF1(n=14/grupo) agrupados en: 1)Sobrecarga de Fe (Laboratorios Rivero) seguida de Hipoxia: Fe-Dextrán(1g/kg)(días: 0/10) + Hipoxia(días: 21-33); 2)Sin Sobrecarga de Fe seguido Hipoxia: SF(días: 0/10) + Hipoxia(días: 21-33); 3)Sobrecarga de Fe en Normoxia: Fe-Dextrán (días: 0/10) + Normoxia (días: 21-33); 4)Sin Sobrecarga de Fe en Normoxia: SF(días: 0/10) + Normoxia(días: 21-33). Los tejidos se procesaron para inmunohistoquímica: anti-Prohepcidina; anti MTP1; EnVision System-HRP(DAB). En el Modelo Acoplado Exceso de Fe+Hipoxia, observamos un aumento marcado de Prohepcidina en hepatocitos asociados a vasos sanguíneos y en el estroma. En Hipoxia, MTP1 de enterocitos aumentó su expresión en membrana basal, con y sin exceso de Fe, respecto a Normoxia, donde se localizó perinuclear. MTP1 renal en Hipoxia sin exceso de Fe, aumentó su expresión en la corteza, sin cambios en Hipoxia con exceso de Fe. Concluimos que la respuesta de MTP1 a Hepcidina en sobrecarga de Fe e Hipoxia es tejido-específica. En intestino, el principal estímulo para la redistribución de MTP1 sería la señal hipóxica. En riñón, el exceso de Fe mediado por Hepcidina, sería el estímulo que predomina sobre MTP1 regulando negativamente su expresión.

**SR5. La ANG II regula la síntesis, captación y el catabolismo renal de la dopamina: Su incidencia sobre la actividad Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasica renal.** Lee BM\*, Medici C\*, Lucano F\*, Contrufo G\*, Choi MR\*, Gironacci M<sup>#</sup>, Fernández BE\*. Cátedras de Fisiopatología\* y Química Biológica<sup>#</sup>, F. Farmacia y Bioquímica, INFIBIOC, UBA, IQUIFIB-CONICET

Estudiamos los efectos de la Angiotensina II (ANGII) sobre el metabolismo de la Dopamina (DA) renal y la actividad de la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa. Se incubaron *in vitro* cortes de riñón de ratas Sprague Dawley, determinándose actividad específica (a.e.) de Dopadecarboxilasa (DDC), MAO y Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa, y captación de <sup>3</sup>H-DA por centellografía líquida. La ANGII 100nM disminuyó la a.e. de DDC (nmol/mg/min  $\pm$  ESM, n=8-15): Controles(C) 5.01  $\pm$  0.06; Carbidopa 100 M 0.21  $\pm$  0.05; ANG II 100nM 2.62  $\pm$  0.14\*. Asimismo disminuyó la captación de <sup>3</sup>H-DA (pmol/g  $\pm$  ESM, n=7-9): Control 9.07  $\pm$  0.14; ANG II 6.34  $\pm$  0.24\*. El agregado de 100 $\mu$ M HC potenció el efecto inhibitorio de la ANGII: HC 6.6  $\pm$  0.07\*; ANG II+HC 4.72  $\pm$  0.10\*. ANG II aumentó la a.e. de la MAO (nmol/mg/hora  $\pm$  ESM): C 737  $\pm$  35.1; ANG 884  $\pm$  57\*. La a.e. de la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa fue reducida un 41% por la DA. La ANGII, tanto en ausencia como en presencia de DA, aumentó la a.e. de la bomba un 35%\*: La hidrocortisona careció de efectos *per se* pero revirtió\* el efecto inhibitorio de la DA y no modificó el efecto de ANGII+DA sobre la actividad de la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa; \* $p < 0.05$  (ANOVA). La ANGII inhibe la síntesis y captación de DA renal y estimula su catabolismo, disminuyendo así la disponibilidad renal de DA e incidiendo indirectamente sobre la regulación dopaminérgica de la actividad Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa tubular.

**SR6. Función renal en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. Rol del óxido nítrico (NO).** Marañón R; Carbiner S; Abregú M; Danna G; Picerno E; Salas N; Joo Turoni C; Peral de Bruno M. Dpto. Biomédico-Or. Fisiología, Facultad de Medicina – Universidad Nacional de Tucumán.

Introducción: El NO en el riñón cumple numerosas funciones como mantenimiento de la perfusión medular, mediación de la natriuresis por presión, inhibición de reabsorción de sodio tubular y modulación de actividad nerviosa renal. Objetivos: Determinar el impacto de la

hipertensión arterial (HTA) inducida por L-NAME sobre la función renal, estructura glomerular y NO en Médula (M) y corteza renal (C). Métodos: A ratas Sprague Dawley se administró L-NAME (50mg/100ml) en agua de bebida por 40-50 días (RLN). Se colocaron en jaulas metabólicas por 24 hs. Previo al sacrificio y extracción de ambos riñones se determinó la presión arterial media (PAM) por método directo. Se midió clearance de creatinina (CCr), glucemia, electrolitos, proteinuria, perfil lipídico y diuresis. Se midió el NO (8-10 fracciones de M y C renal - método de Griess) y se realizó estudios histomorfológicos. Los resultados se compararon con ratas controles (RC). En el análisis estadístico se usó "t" de Student y ANOVA. Resultados: La administración de L-NAME incrementó significativamente la PAM ( $163 \pm 16$  n=7; RC:  $113 \pm 3$  mmHg, n=9,  $p < 0,001$ ). En RLN se encontró disminución del CCr ( $0,64 \pm 0,02$  n=6; RC:  $0,97 \pm 0,03$  n=5 ml/min/100gr;  $p < 0,001$ ) a expensas del aumento de la [Cr] urinaria, sin modificación de otros parámetros bioquímicos. El peso renal fue mayor en RLN ( $1345 \pm 106$  mg n=6; RC:  $772,8 \pm 93$  mg n=6;  $p < 0,02$ ). El espacio de Bowman mostró un aumento en RLN ( $80,6 \pm 12,3 \mu\text{m}^2$ ; n=5; RC:  $33,4 \pm 9,8 \mu\text{m}^2$  n=5;  $p < 0,017$ ; 12 glomérulos/corte). El NO en RC fue de  $1,5 \pm 0,3$  n=8 en M y  $0,5 \pm 0,3$  nmol/mg de tejido, n=5 en C ( $p < 0,02$ ). El NO en RLN fue similar en M y C ( $3,3 \pm 0,7$  n=7 vs  $3,2 \pm 0,9$  nmol/mg n=8). En ambos casos fue mayor que RC (M:  $p < 0,03$  y C:  $p < 0,04$  vs RC). Conclusiones: La inhibición de la síntesis de NO habría producido una disminución del CCr indicando que la función renal en RLN estaría alterada. La mayor liberación de NO en M y C in vitro sugeriría que aún estaría presente el efecto contrarregulador del NO en el tejido renal, hecho observado a nivel glomerular.

#### SR7. Expresión de Aquaporina-8 mitocondrial (AQP8mt) del túbulo proximal renal en un modelo de acidosis metabólica en rata. Molinas SM<sup>1</sup>, Trumper L<sup>2</sup>, Marinelli RA.<sup>1</sup> <sup>1</sup>IFISE/UNR, <sup>2</sup>CIUNR.

La síntesis mitocondrial de  $\text{NH}_4^+$  en las células proximales y su posterior excreción urinaria es una respuesta renal clave para mantener el equilibrio ácido-base durante la acidosis metabólica. AQP8 facilita el transporte difusivo de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  y se localiza en membrana interna mitocondrial de las células proximales, por lo que hipotetizamos participaría en el transporte mitocondrial de  $\text{NH}_4^+$  en acidosis. Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de la acidosis sobre la expresión de AQP8mt en el túbulo proximal renal. La acidosis metabólica se logró administrando  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,28M + sacarosa 2% a ratas Wistar macho adultas (n=6 por grupo) en el agua de bebida durante 2 (A2) ó 7 días (A7). Los controles recibieron sacarosa 2% (C2 ó C7). Mediante centrifugación diferencial y tratamiento con digitonina se aislaron membranas internas mitocondriales de corteza renal. Estudios de *immunoblotting* mostraron que la expresión de AQP8mt no difirió de los controles en A2, mientras que aumentó significativamente en A7 (50 %). Este aumento coincidió con una mayor excreción urinaria de  $\text{NH}_4^+$  (C2:  $41 \pm 10$ ; C7:  $52 \pm 8$ ; A2:  $252 \pm 30^*$ ; A7:  $308 \pm 50^{*#}$   $\mu\text{molNH}_4^+/\text{mg}$  creatinina), y una mayor compensación del pH sanguíneo (C2:  $7,37 \pm 0,01$ ; C7:  $7,39 \pm 0,02$ ; A2:  $7,26 \pm 0,01^*$ ; A7:  $7,32 \pm 0,02^{*#}$ ) y del bicarbonato plasmático (C2:  $26,5 \pm 0,4$ ; C7:  $25,8 \pm 0,4$ ; A2:  $17,6 \pm 0,9^*$ ; A7:  $21,3 \pm 0,4^{*#}$  mM). \* $p < 0,05$  vs. C; # $p < 0,05$  vs. A2. Estos resultados sugieren un rol de AQP8mt en la respuesta de las células proximales a la acidosis crónica.

#### SR8. Permeabilidad al amoníaco de la aquaporina-8 de rata (rAQP8) expresada en mitocondrias de levadura. Soria LR<sup>1</sup>, Fanelli E<sup>2</sup>, Altamura N<sup>2</sup>, Marinelli RA<sup>1</sup>, Calamita G<sup>2</sup>. <sup>1</sup>IFISE/UNR, <sup>2</sup>UNIBA.

La destoxificación del amoníaco ocurre en el hígado, principalmente a nivel mitocondrial por ureagénesis. La rAQP8 muestra permeabilidad a análogos del amoníaco y está presente en la membrana mitocondrial interna del hepatocito. No obstante, se desconoce si la rAQP8 facilita el transporte mitocondrial del amoníaco.

A fin de estudiar este proceso, la rAQP8 se expresó en membranas mitocondriales internas de levadura. Utilizamos *Saccharomyces cerevisiae* (*pep4Δ*) que posee baja actividad proteolítica para proteínas heterólogas, y por la técnica de *Stopped Flow Light Scattering* estudiamos el transporte del amoníaco al interior mitocondrial empleando formamida como análogo. Preparamos y caracterizamos la fracción mitocondrial; anticuerpos específicos para distintas regiones de la proteína mostraron un enriquecimiento de rAQP8 en membrana mitocondrial interna. Evaluamos la integridad de las mitocondrias sometiéndolas a un gradiente hipertónico de manitol; éstas fueron capaces de responder osmóticamente. Finalmente, estudiamos el transporte mitocondrial del amoníaco imponiendo un gradiente de formamida; las mitocondrias que expresan AQP8 transportaron tres veces más rápidamente formamida que las mitocondrias control (Control:  $0,17 \pm 0,02 \text{ s}^{-1}$ ; n= 17 vs. rAQP8:  $0,48 \pm 0,04 \text{ s}^{-1}$ ; n= 36  $p < 0,001$ ). Nuestros resultados sugieren que la AQP8 mitocondrial facilita el transporte difusivo del amoníaco, un proceso que podría cumplir un rol importante en la destoxificación hepática del amoníaco abasteciendo el ciclo de la urea.

## GLÁNDULAS EXOCRINAS

#### GE1. Cinética de la actividad NTPDásica presente en microsomas de glándula submaxilar de rata

Egido P, García M.H. y González D.A.

Cátedra de Biofísica, Facultad de Odontología, UBA.

ATP y UTP (NTP), y ADP y UDP (NDP) son agonistas de los receptores purinérgicos presentes en células de glándulas submaxilares (GSM), que modulan la secreción y composición de la saliva. Su concentración es modificada por la acción de NTPDasas, por lo que el comportamiento cinético de estas enzimas tiene importancia en la fisiología glandular. Recientemente (Ostuni et al, *Physiol Res.* 2008 Dec 17) hemos descrito la actividad NTPDásica presente en microsomas de GSM enriquecidos en retículo endoplasmático (RE). Con  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Mg}^{2+}$  milimolar como cosustrato, los NTP son hidrolizados a mayor velocidad que los NDP (4: 1). Ensayos bioquímicos, inmunofluorescentes y de co-localización sugieren la presencia de una NTPDasa1 en membranas de RE, una de las 4 isoformas descritas en membrana plasmática de distintos tipos celulares. Una observación significativa es que la actividad ATPásica que medimos disminuye rápidamente a medida que aumenta el tiempo de incubación con ATP. La cinética de inactivación es bifásica, con un T1/2 temprano menor a 1 minuto y otro de varios minutos. Presentamos un modelo cinético para la hidrólisis de NTP y NDP, que explica nuestros resultados y debería ser tenido en cuenta cuando se pretende medir la velocidad inicial de las NTPDasas frente a diferentes concentraciones de sustrato.