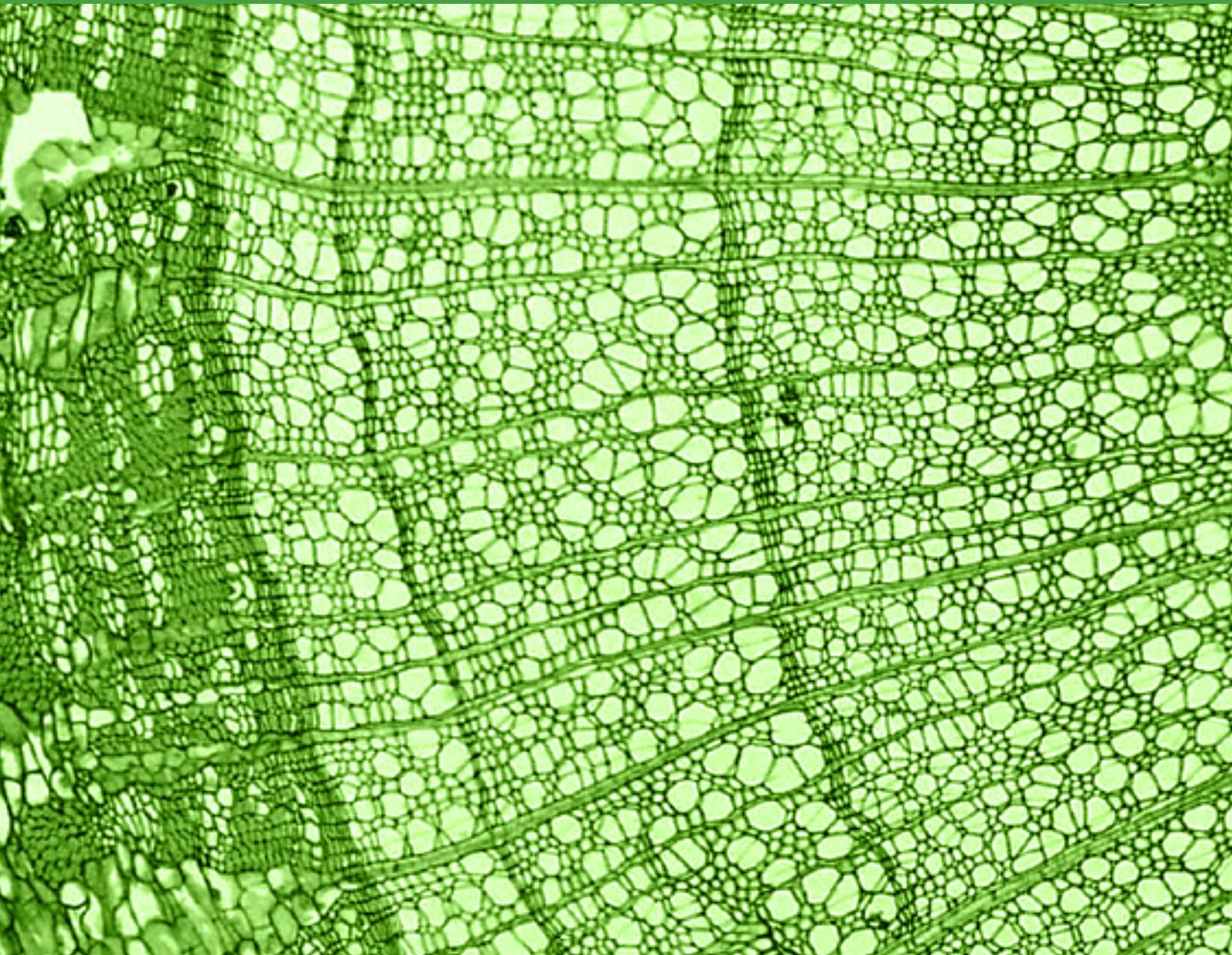


Physiological Mini Reviews

Especial Issue

Congress of the Argentinean Physiological Society 2012
Program and Abstracts

6
Volume



Vol. 6 #2, January-February, 2013

ISSN 1669-5402 (Print) | ISSN 1669-5410 (Online)
pmr.safisiol.org.ar



Physiological Mini-Reviews

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

Edited by the **Argentinean 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 Cereijido, México City, México.
Horacio Cingolani, La Plata, Argentina.
Ana Franchi, Buenos Aires, Argentina
María Inés Vaccaro, Buenos Aires, 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.
Martín Vila-Petroff, La Plata, Argentina

Editor in Chief: Alicia Mattiazzi, La Plata, Argentina

Associate Editor: Leticia Vittone, La Plata, Argentina

Founding Editor: Mario Parisi, Buenos Aires, Argentina

Publishing Scientific

Committee:

Carlos A. Valverde, La Plata, Argentina
Matilde Said, La Plata, Argentina
Cecilia Mundiña-Weilenmann, La Plata, Argentina

Editor Assistant María Inés Vera

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 see Instructions in the electronic page. 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:
pmr@safisiol.org.ar

Advertising:

For details, rates and specifications contact the Associate Editor at the Journal address e-mail: pmr@safisiol.org.ar

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

SAFIS 2012

SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGIA
REUNION ANUAL 2012

ROSARIO, 4 Y 5 DE OCTUBRE DE 2012

PROGRAMA Y RESÚMENES



SAFIS

Sociedad Argentina de Fisiología



Bienvenidos

Tengo el agrado de darles la bienvenida a todos los participantes de la Reunión Científica 2012 de la Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS 2012) que en esta ocasión se llevará a cabo por vez primera en la ciudad de Rosario.

En el año 1950, poco tiempo después de recibir el premio Nobel, el Dr. Bernardo Houssay fundó la Sociedad Argentina de Ciencias Fisiológicas, que participó en la organización del Congreso Internacional de Ciencias Fisiológicas en Buenos Aires en 1959 y de muchas otras reuniones en distintas ciudades de nuestro país y fue además, impulsora de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas (ALACF). En el año 2003, después de una década sin realizar Reuniones y por iniciativa del Dr. Mario Parisi, se reorganizó con el nombre de Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS). Desde entonces, la SAFIS ha realizado y participado de sucesivos Congresos en el ámbito nacional e internacional, además de organizar el primer Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología y editar la revista online *Physiological Mini-Reviews*.

Para esta Reunión, organizamos dos Conferencias y cuatro Simposios con distinguidos disertantes del país y del extranjero. Además, con el propósito de estimular la participación y continua formación de jóvenes investigadores, ofrecemos dos distinciones, el premio SAFIS a la mejor contribución en Ciencias Fisiológicas y el premio Camilión de Hurtado a la mejor contribución en Fisiología Cardiovascular.

Deseo agradecer a los disertantes, a los coordinadores y a los jurados de los premios por su invaluable colaboración. Por último, y cerca de concluir mi mandato como presidente de SAFIS, deseo agradecer muy especialmente a cada uno de mis colegas integrantes de la Comisión Directiva que me han acompañado en estos dos años de trabajo.

Les agradezco su presencia y participación y espero disfruten del Congreso.

Raúl A. Marinelli
PRESIDENTE SAFIS

Autoridades

Presidente:

Raúl A. Marinelli

Vicepresidente:

Claudia Capurro

Tesorera:

M. Cecilia Larocca

Secretaria:

Cristina Carnovale

Vocales Titular:

Alejandro Aiello
M. de los Ángeles Costa
M. Laura Barreiro
Susana Mosca

Vocales Suplentes:

Aldo Mottino
Marta Tessone
Martín Donato
Roxana Toriano

Vocal Región Litoral-Noreste:

Laura Trumper

Vocal Externo:

Marcelino Cerejido

Vocal Externo:

Hugo Besedovsky

Vocales Externos Suplentes:

Ariel Escobar
Julio Copello

Órgano de Fiscalización:

Alberto Crottogini
Cristina Ibarra

Programa

Jueves 4

9:00 - 10:00 h

INSCRIPCIÓN

10:00 - 12:00 h

▮ SIMPOSIO

“Transportadores de Endobióticos: Participación en Procesos Fisiológicos y Fisiopatológicos”

Coordinadores:

Aldo D. Mottino, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR; IFISE- CONICET y Marcelo G. Roma, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR; IFISE-CONICET.

Disertantes:

Carlos Davio. Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA; CONICET.

“El MRP4/ABCC4 entra en escena en la historia épica del AMPc: un nuevo actor con implicancias fisiopatológicas”

Liliana Bianciotti. Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA;

CONICET. *“MRP4/ABCC4 y Factor Natriurético Atrial: Una asociación beneficiosa en la fisiología del páncreas exócrino”*

Silvana Zanlungo. Dpto de Gastroenterología, Fac. de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. *“Relevancia del transportador lisosomal de colesterol NPC1 en el hígado y cerebelo”*

Pablo J. Schwarzbau. Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA; IQUIFIB-CONICET. *“Regulación del ATP extracelular en eritrocitos humanos”*

12:00 - 14:00 h

LIBRE (ALMUERZO)

14:15 - 16:15 h

▮ PRESENTACIÓN DE TRABAJOS: POSTERS COORDINADOS

Sesiones:

Cardiovascular I. *Coordinadores:* Cecilia Mundiña,

Matilde Said, Alicia Consolini y Claudia Caldiz

Endócrino y Nervioso. *Coordinadores:* Marcelo Vatta y

Andrea De Laurentiis

Renal. *Coordinadores:* Laura Trumper y Elsa Zotta

Reproducción. *Coordinadores:* Silvina Perez Martinez

Transporte. *Coordinadoras:* Viviana A. Catania y

M. Victoria Espelt

16:30-18:30 Hs

▮ SIMPOSIO

“Regeneración y Muerte Celular Cardíaca: Nuevos Enfoques”

Coordinadores:

Alejandro Aiello, Fac. de Ciencias Médicas, UNLP; CONICET y Susana Mosca, Fac. de Ciencias Médicas, UNLP; CONICET.

Disertantes:

Martín Vila Petroff. Fac. de Ciencias Médicas, UNLP;

CONICET. *“CaMKII: intermediario común de diversos estímulos apoptóticos”*

Irene Ennis. Fac. de Ciencias Médicas, UNLP; CONICET.

“Señalización intracelular en el remodelamiento postinfarto”

Rubén Laguens. Universidad Favaloro, Buenos Aires.

“Mioblastos esqueléticos en la regeneración cardíaca: Vino nuevo en odres viejos”

Rodolfo Goya. Fac. de Ciencias Médicas, UNLP;

INBIOLP-CONICET. *“Vectores virales de alta capacidad y magnetofección como tecnologías para la implementación de terapia génica y celular”*

19:00 h

▮ PALABRAS DE BIENVENIDA

Presidente SAFIS **Raúl A. Marinelli**

19:15 - 20:15 h

▮ CONFERENCIA APERTURA

“Endocannabinoides y reproducción: una relación tormentosa”

Disertante:

Ana Franchi, Fac. de Medicina, UBA; CEFyBO-CONICET.

Coordinadora:

Valeria Rettori, Fac. de Medicina, UBA; CEFyBO-CONICET.

20:30 h

ASAMBLEA SAFIS

Viernes 5

9-10 h

► CONFERENCIA

"El pez cebrá como herramienta para el modelado de enfermedades humanas"

Disertante:

Nora Calcaterra, Fac. Cs. Bioq. Farm., UNR; IBR-CONICET.

Coordinador:

Enrique Sanchez Pozzi, Fac. Cs. Bioq. Farm., UNR; IFISE-CONICET.

10:15-12.15 h

► SIMPOSIO

"Cilios Primarios: Biología y Fisiopatología del Sistema Sensorial Celular"

Coordinadores:

Sergio A. Gradilone, Dept of Medicine, Div. Gastroenterology and Hepatology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA y Horacio F. Cantiello, Fac. de Odontología, UBA; CONICET.

Disertantes:

Horacio F. Cantiello. Fac. de Odontología, UBA; CONICET.

"Relaciones estructura-función en el cilio primario. Conexión entre canales y microtúbulos"

Maria del Rocio Cantero. Fac. de Odontología, UBA;

CONICET. *"Transporte catiónico en la membrana del cilio primario. Posibles implicancias en la función ciliar"*

José Badano. Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay.

"Entendiendo la base celular de las ciliopatías"

Sergio A. Gradilone. Dept of Medicine, Div. Gastroenterology and Hepatology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA. *"El Cilio Primario en Colangiocarcinoma. ¿Una Organela Supresora de Tumores?"*

12:15 - 14:00 h

LIBRE (ALMUERZO)

14:15 - 16:15 h

► PRESENTACIÓN DE TRABAJOS: POSTERS COORDINADOS

Sesiones:

Cardiovascular II *Coordinadores:* Gustavo Perez y

Patricia Bonazzola

Fisiología Celular *Coordinadoras:* Paula Ford y

M. Cecilia Larocca

Gastrointestinal *Coordinador:* Fernando A. Crocenzi

Metabolismo *Coordinadores:* Cristián Favre y

María de Luján Alvarez

Sangre e Inmunidad *Coordinadora:* M. Laura Barreiro

16:30 - 18:30 h

► SIMPOSIO

"Blancos Fisiológicos del Estrés Oxidativo"

Coordinadoras:

María de los Ángeles Costa, Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA, IQUIMEFA-CONICET y Laura Gonzalez Bosc, Department of Cell Biology & Physiology, University of New Mexico.

Disertantes:

Cristina Arranz, Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA,

IQUIMEFA-CONICET. *"Programación fetal de enfermedades en el adulto. ¿Es mediada por el estrés oxidativo?"*

Alberto Boveris. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

"Disfunción mitocondrial, daño oxidativo y la enfermedad neurodegenerativa"

José Viña Ribes. Departamento de Fisiología, Universidad

de Valencia, España. *"La teoría de los radicales libres del*

envejecimiento: ¿Sigue siendo válida?"

19:00 h

► ACTO DE CIERRE Y ENTREGA DE PREMIOS

Premio SAFIS al mejor trabajo en ciencias fisiológicas

Premio Camilión de Hurtado al mejor trabajo en fisiología

cardiovascular.

20:00 h

BRINDIS DESPEDIDA

Conferencia: Endocannabinoides y reproducción: una relación tormentosa. Disertante: Ana Franchi	
.....	10
Conferencia: El pez cebra como herramienta para el estudio de patologías humanas. Disertante: Nora Calcaterra	
.....	11
Simposio: Transportadores de endobióticos: participación en procesos fisiológicos y fisiopatológicos	
.....	12
• El MRP4/ABCC4 entra en escena en la historia épica del AMPc: un nuevo actor con implicancias fisiopatológicas. Disertante: Carlos Davio.	
• MRP4/ABCC4 y factor natriurético atrial: una asociación beneficiosa en la fisiología del páncreas exócrino. Disertante: Liliana Bianciotti.	
• Regulación del ATP extracelular en eritrocitos humanos. Disertante: Pablo Schwarzbaum.	
• Relevancia del transportador lisosomal de colesterol NPC1 en el hígado y cerebelo. Disertante: Silvana Zanlungo.	
Simposio: Regeneración y Muerte Celular Cardíaca: Nuevos Enfoques	
.....	16
• Señalización intracelular en el remodelamiento postinfarto. Disertante: Irene Ennis.	
• CaMKII: intermediario común de diversos estímulos apoptóticos. Disertante: Martín Vila Petroff.	
• Mioblastos esqueléticos en la regeneración cardíaca. Vino nuevo en odres viejos. Disertante: Rubén Laguens.	
• Vectores virales de alta capacidad y magnetofección como tecnologías para la implementación de terapia génica y celular. Disertante: Rodolfo Goya.	
Simposio: Cilios Primarios: Biología y Fisiopatología del Sistema Sensorial Celular	
.....	20
• Transporte Catiónico en la Membrana del Cilio Primario. Posibles Implicancias en la Función Ciliar. Disertante: María del Rocío Cantero.	
• Relaciones estructura-función en el cilio primario. Conexión entre canales y microtúbulos. Disertante: Horacio F. Cantiello.	
• El Cilio Primario en Colangiocarcinoma. ¿Una Organela Supresora de Tumores? Disertante: Sergio A. Gradilone.	
• Entendiendo la base celular de las ciliopatías. Disertante: José Badano.	
Simposio: Blancos Fisiológicos del Estrés Oxidativo	
.....	23
• La teoría de los radicales libres del envejecimiento: ¿Sigue siendo válida? Disertante: José Viñas Ribes.	
• Disfunción mitocondrial, daño oxidativo y las enfermedades neurodegenerativas. Disertante: Alberto Boveris.	
• Programación fetal de enfermedades en el adulto. ¿Es mediada por el estrés oxidativo? Disertante: Cristina Arranz.	
Presentación de trabajos: posters coordinados	
▼ Cardiovascular I	
#2. Efectos de la administración de altas dosis de vitamina E sobre la relajación vascular en dos variantes del modelo experimental de síndrome metabólico. Wallinger ML, Linares LM, Viglione PN, Reyes MP, Reyes-Toso CF.	
.....	26
#4. El silenciamiento del receptor de mineralocorticoides (MR) del miocardio cancela la segunda fase de fuerza (SFF) post-estiramiento. Díaz RG, Villa-Abrille MC, Ennis IL, Morgan PE, Cingolani HE, Pérez NG.	
.....	26
#7. Efectos diferenciales de los estereo-isómeros de la arginina en el control de la presión arterial y la frecuencia cardíaca. Guridi J, Borgatello C, Scremin Ou.	
.....	26
#12. Efectos vasculares de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en ratas espontáneamente hipertensas menopáusicas. Pineda G, Zilberman J, Elesgaray R, Costa A, Arranz C.	
.....	27

Indice

#14. Efectos de la hipoxia-hipobárica de corta duración sobre el comportamiento mecánico y energético de corazones de rata adulta. Bonazzola P, Lapadula P, Costa LE.	27
#15. Mecanismos involucrados en la relajación del músculo liso vascular inducida por el péptido natriurético tipo C en ratas espontáneamente hipertensas. Suarez di Salvo D, Caniffi C, Sueiro L, Wenk G, Muñoz González F, Radionovas V, Reyes A, Arranz C, Costa MA.	27
#21: Producción miocárdica de especies reactivas del oxígeno de origen mitocondrial en respuesta a aldosterona: vías de señalización intracelular involucradas. Nolly MB; Caldiz CI; Yeves AM; Villa-Abrille MC; Morgan PE; Chiappe GE; Cingolani HE; Ennis IL.	28
#23: Las isoformas del cotransportador sodio/bicarbonato cardíaco en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y su posible implicancia en la hipertrofia cardíaca. De Giusti VC., Orlowski A, Ciancio MC, De Martino M, Aiello EA.	28
#24: Rol predominante de la P-GSK-3β citosólica en la cardioprotección mediada por el pre y postcondicionamiento isquémicos en SHR. González Arbeláez LF, Pérez Núñez IA, Fantinelli JC, Mosca SM.	28
#30. Efecto de los cambios redox del receptor de rianodina cardíaco (RyR2) sobre la generación de arritmias de reperfusión. Said M, Becerra R, Herrero A, Mundiña-Weilenmann C, Mattiazzi A, Vittone L.	29
#31. Caveolinas y óxido nítrico sintasa ventricular en ratas hipertiroideas. Martinez C, Saratti L, Tavella B, Duarte J, Balaszczuk AM, Fellet A.	29
#44. Inhibición de la Cx43 durante el ejercicio físico intenso Tiscornia GC, Moretta RE, Argenziano MA, Amorena CE, Garcia-Gras EA.	30
#53: Injuria cardíaca asociada a la tolerancia a la glucosa alterada: Rol de la Ca ²⁺ -Calmodulina quinasa II. Sommese L, Blanco PG(2), Castro C, Velez Rueda JO, Mattiazzi A, Palomeque J.	30
#56: Mecánico-energética de corazones de ratas hipertiroideas en un modelo de atontamiento por isquemia-reperfusion. Ragone MI, Colareda GA, Consolini AE, Bonazzola P.	30
#58: Papel del intercambiador Na ⁺ /H ⁺ en la hipertrofia cardíaca fisiológica. Yeves AM, Villa-Abrille MC, Nolly MB, Pinilla OA, Pérez NG, Escudero EM, Ennis IL.	31
▼ Cardiovascular II	
#59: Efecto del implante de células mesenquimales adiposas genéticamente modificadas en conejos con enfermedad vascular periférica experimental. Olea FD, Hnatiuk A, De Lorenzi A, Valdivieso L, Locatelli P, Sepúlveda D, Ramírez R, Laguens R, Crottogini A.	31
#60: La deficiencia moderada de zinc programa alteraciones en la función cardíaca en la vida adulta. Juriol L, Gobetto N, Cardelli Alcalde D, Elesgaray R, Zilberman J, Corrales Barbosa A, Costa MA, Arranz C, Tomat A.	31
#61: Mecanismos subcelulares involucrados en la apoptosis inducida por marcapaseo rápido en cardiomiocitos de rata adulta. Sepúlveda M, Gonano L y Vila Petroff M.	32
#62: Deficiencia moderada de zinc durante la vida fetal y la lactancia en ratas de ambos sexos: alteraciones cardíacas durante el desarrollo. Gobetto N, Veiras L, Juriol L, Elesgaray R, Mendes Garrido F, Costa MA, Tomat A, Arranz C.	32
#67: Caracterización del receptor de rianodina (RyR2) y su fosforilación por la quinasa dependiente de Ca calmodulina (CaMKII) durante la injuria por isquemia y reperfusión cardíaca (I/R). Di Carlo MN, Valverde CA, Said M, Mattiazzi A, Salas M.	33

#68: <i>Drosophila melanogaster</i> como modelo para estudiar enfermedades cardiovasculares humanas. Harnichar E, Valverde C, Lacunza E, Rivera Pomar R, Mattiazzi A, Ferrero P.	#35: Efecto del flujo luminal sobre la respuesta reguladora de volumen en células renales. Pizzoni A, Fernandez JM, Di Giusto G, Rivarola V, Capurro C, Ford P.
33	36
#69: Alteraciones vasculares inducidas por una deficiencia moderada de zinc. Mendes Garrido F, Dasso M, Herrera L, Bouchet G, Elesgaray R, Costa MA, Tomat A, Arranz C.	#48: Participación del TRPV4 en la proliferación de células renales que expresan AQP2. Di Giusto G, Rivarola V, Pizzoni A, Fernández J, Ford P y Capurro C.
33	36
#70: Tratamiento crónico con péptido natriurético tipo C en ratas espontáneamente hipertensas: estudio de los efectos a nivel vascular. Cerniello M, Caniffi C, Bouchet G, Sueiro L, Muñoz González F, Arranz C, Costa MA.	#50: Rol de la isoforma 2 del intercambiador Na ⁺ /H ⁺ (NHE2) en la proliferación de células renales: papel de la expresión de la acuaporina 2 (AQP2) Rivarola V, Di Giusto G, Fernandez J, Ford P y Capurro C.
34	37
#71: Efectos del tratamiento crónico con péptido natriurético tipo C sobre la función cardíaca. Participación del sistema del óxido nítrico. Wenk G, Caniffi C, Bouchet G, Romero M, Cerniello M, Savignano L, Arranz C, Costa MA.	▼ Gastrointestinal
34	
▼ Endócrino	#5: Ureagénesis basal y estimulada por glucagon en cultivo primario de hepatocitos con knockdown de la AQP8 mitocondrial. Soria LR, Marrone J, Taborda DR, Marinelli RA.
	37
#19: Efecto del tratamiento con insulina en ratones diabéticos sobre la proliferación hepatocitaria. Francés DE, Ronco MT, Monti J, Pisani G, Parody JP, Carrillo MC, Carnovale CE.	#9: Transferencia génica de Aquaporina-1 humana (hAQP1) a animales con colestasis hepatocelular. Marrone J, Lehmann GL, Soria LR, Marinelli RA.
34	37
#40: Participación del sistema endocannabinoide en la respuesta neuroendócrina al estrés agudo de inmovilización en ratas. Luce V, Correa F, Rettori V, De Laurentis A.	#11: Fosfatasa alcalina salival como medio de diagnóstico de Periimplantitis. Azzi EJ, Acuña MJ, Juárez RP.
35	38
▼ Fisiología Celular	#13: Concentraciones fisiológicas de bilirrubina no conjugada (BNC) previenen la injuria oxidativa hepatocelular. Basiglio CL, Toledo FD, Arriaga SM, Sánchez Pozzi EJ, Ochoa JE, Mottino AD, Roma MG.
	38
#3: Participación de AKAP350 centrosomal en la migración de células HepG2. Tonucci F; Mattaloni SM; Ferretti AC; Favre C; Larocca MC.	#18: Modulación por proteína quinasas activadas por mitógeno (MAPKs) del estrés oxidativo (EO) y la alteración de la función secretora hepatocanalicular inducida por tert-butilhidroperóxido (tBOOH). Toledo FD, Basiglio CL, Boaglio AC, Barosso IR, Zucchetti AE, Sánchez Pozzi EJ, Roma MG.
35	39
#8: Evidencias de muerte por necrosis en células HepG2 con knockdown de acuaporina-8 mitocondrial. Marchisio MJ, Francés DEA, Carnovale CE, Marinelli RA.	#27: Diazepam induce un aumento en la proliferación hepatocelular en un modelo de hepatectomía parcial en ratas. Quiroga MV, Pagotto MA, Lugano MC, Zucchetti A, Pisani GB, Trumper L, Monasterolo LA.
36	39
#17: El ADP: un novedoso modulador del volumen celular en células de hepatoma humano Huh-7. Espelt MV, Alvarez F, de Tezanos Pinto F, Schwarzbaum PJ.	
36	

Índice

Metabolismo

#22: Efecto del ácido zoledrónico sobre el cartilago de crecimiento y el hueso esponjoso primario de ratas ovariectomizadas. Bues F, Lombarte M, Di Loreto V.39

#33: Interacción entre SIRT1 y PPAR α en preneoplasia hepática. Casella ML, Ceballos MP, Parody JP, Carrillo MC, Alvarez ML.40

#37: Comparación de los efectos del hierro y el alcohol sobre el estrés oxidativo en ratones. García BN, Roque ME.40

#38: Función pulmonar en el ciclo del hierro en un modelo experimental de estrés oxidativo. Giorgi G, Roque ME.41

#39: Regulación del ciclo del hierro en estrés oxidativo mediado por DMT1 pancreática y ferritina. Giorgi G, Roque ME.41

#41: Regulación de la supervivencia ante estrés nutricional en células HepG2: participación de las quinasas AMPK y PKA. Ferretti AC, Mattaloni SM, Tonucci F, Larocca MC, Favre C.41

#55: Perfil lipídico y composición de ácidos grasos plasmáticos en ratas sometidas a diferentes períodos de estrés crónico. Scoppa HG, Bensi N, García M, Binotti S, Gauna HF, Niebylski AM.42

Nervioso

#32: Regulación de la tirosina hidroxilasa por las endotelinas 1 y 3 en los bulbos olfatorios de rata: papel de la vía de las MAPK. Giannoni F, Guil MJ, Morales VP, Hope SJ, Nabhen S, Bianciotti LG, Vatta MS.42

#43: Apetito por el sodio: ¿Porqué no se desarrolla inmediatamente después de la depleción de sodio corporal?. Godino A, Caeiro X, Vivas L.42

#47: La intoxicación aguda con paraquat induce alteraciones en la bioenergética mitocondrial en cuerpo estriado. Czerniczyniec A, Lanza EM, Bustamante J y Lores Arnaiz S.43

#65: Los receptores para la neurotensina de alta afinidad pero no los de baja afinidad están involucrados en la inhibición de la Na/K-ATPasa neuronal por el péptido. Gutnisky A, Álvarez Juliá A, López Ordieres MG, Rodríguez de Lores Arnaiz G.43

Renal

#1: Excreción urinaria de sodio alterada e insulinoresistencia en adolescentes obesos con adiposidad abdominal: relación con la hipertensión. M de Jensen A N, López M S, Mir C N, I. de Piansi M E, Manulak M A, Trigo C.43

#34: Efectos renales de una nueva toxina asociada al síndrome urémico hemolítico (SUH). Oltra G, Seyahian A, Ochoa F, Melendi S, Araoz A, Nacher S, Bellusci AD, Hermes R, Ibarra C; Lago NR, Zotta E.44

#36: Síndrome urémico hemolítico: progresión de la lesión renal a la cronicidad. Melendi S; Oltra G ; Seyahian A; Araoz A; Ibarra C; Lago NR; Zotta E; Ochoa F.44

#42: Modificación de la función renal durante la ingesta prolongada de glutamato monosódico (GMS). Mahieu S, Millen N, Riera L, Contini M del C.44

#46: Los transportadores de cationes orgánicos a nivel renal modulan la excreción renal de sodio-dopamina dependiente. Rukavina Mikusic NL, Kouyoumdzian NM, Gorzalczanic S, Carranza A, Pandolfo M, Kravetz MC, Fernández BE, Choi MR.45

#54: Diferencias en la excreción de sodio y en el estrés oxidativo en respuesta al estrés crónico en ratas hembras enteras, castradas y machos. Jimeno M, Farias M, Binotti S, Stagnoli S, Bensi N, Gauna H, Niebylski A.45

#63: Efectos antifibróticos y antioxidantes del tratamiento crónico con péptido natriurético atrial sobre el riñón de ratas espontáneamente hipertensas. Radionovas V, Romero M, Bouchet G, Caniffi C, Savignano L, Elesgaray R, Tomat A, Mac Laughlin M, Arranz C, Costa MA.45

#64: Efecto del estrés hipertónico in vivo sobre la expresión de AQP2 en médula renal de rata. Choi MR, Della Penna SL, Cao G, Zotta E, Sarati L, Fellet A&, Balaszczuk AM&, Gorzalczy S, Pandolfo M, Toblli JE, Fernández BE, Rosón MI.	46
Reproducción	
#6: Activación de la proteína Spleen Tyrosine Kinase (SYK) durante la fecundación en <i>Bufo arenarum</i> . Mouguelar VS, Coux G.	46
#28: Evidencias de la interacción entre DMBT1 y galectina-3 en oviducto porcino. Roldan ML, Marini PE.	47
#57: Estudio de la anandamida (AEA) como inductor fisiológico de la liberación de los espermatozoides (ESP) del oviducto (OVI) en bovinos. Gervasi MG, Osycka-Salut C, Burdet J, Franchi A y Perez-Martinez S.	47
Sangre e Inmunidad	
#20: La peroxidación lipídica afecta propiedades de la membrana de los glóbulos rojos en pacientes con lupus eritematoso sistémico. Spengler MI, Svetaz MJ, Leroux MB, Bertoluzzo SM, Petrelli D, Parente FM, Bosch P.	47
#29: Efecto del tratamiento de proantocianidinas extraídas de <i>Ligaria cuneifolia</i> (Lc) sobre propiedades reológicas eritrocitarias y concentración de colesterol plasmático en ratas hipercolesterolemicas. Beloscar L, Galliano S, González J, Dominighini A, Crosetti D, Urli L, Ronco MT, Monti J, Carnovale C, Luquita A.	48
#51: Comparación de los mecanismos intracelulares involucrados en la regulación negativa de la fisiología linfocitaria inducidos por el déficit in vitro e in vivo de zinc. Paulazo MA, Klecha AJ, Sterle HA, Barreiro Arcos ML, Cremaschi GA.	48
Transporte	
#10: Inducción de la proteína asociada a resistencia a multidrogas 2 (MRP2) por enteroglucagon tipo 2 (GLP-2) en células caco-2. Villanueva SSM, Arias A, Perdomo VG, Rigalli JP, Ruiz ML, Luquita MG, Catania VA y Mottino AD.	48
#16: Rol de AQP3 y AQP9 en los procesos apoptóticos asociados a placentas preeclámpticas. Szpilbarg N, Reca A, Dietrich V, Di Paola M, Castro-Parodi M, Damiano AE.	49
#25: Evidencias de una alta conductancia al calcio a través de la policistina-2. Cantero MR, Pérez PL, Rossi AM, Gutiérrez BC, Rodríguez V, Cantiello HF.	49
#26: Presencia de canales permeables al calcio en el cilio primario de las células epiteliales renales. Cantero MR, Mallou MF, Frías GB, Velázquez IF, Gardeñes CA, Cantiello HF.	50
#45: Evolución de la Expresión de Proteínas Involucradas en el Transporte de Na ⁺ en el TCP durante el Envejecimiento. Potilinski MC, Amorena C.	50
#49: Expresión de CFTR y AQP3 en placenta humana preeclámptica. Di Paola M, Szpilbarg N, Zotta E, Maskin B, Castro-Parodi M, Damiano AE.	50
#52: Regulación de ATP extracelular en eritrocitos humanos. Leal Denis MF, Incicco JJ, Espelt MV, Lazarowski ER, Schwarzbaum PJ.	51
#66: Homeostasis del ATP extracelular (ATPe) en eritrocitos de <i>Xenopus laevis</i> . Badorrey MS, Leal Denis MF, Incicco JJ, Montalbetti N, Espelt MV, Schwarzbaum PJ.	51

▀ CONFERENCIA

Endocannabinoides y reproducción: una relación tormentosa

Wolfson MI, Salazar AI, Cella M, Vercelli CA, Franchi AM
Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO, CONICET-UBA)
Paraguay 2155, Buenos Aires, Argentina. anafranchi2000@gmail.com

Disertante: Ana M. Franchi

Los endocannabinoides son una clase emergente de mediadores lipídicos que se encuentran tanto en el cerebro como en los tejidos periféricos y actúan a través de receptores de cannabinoides (CB1 y CB2). A estos receptores también se une el componente psicoactivo de la marihuana (delta 9 tetrahidrocannabinol).

En los últimos años la Anandamida (AEA) y otros endocannabinoides se han convertido en actores fundamentales en diversos aspectos de la reproducción humana, tanto de hombres como de mujeres. La mayoría de las células reproductoras y los tejidos, tales como los blasto-

cistos y espermatozoides, el útero y los testículos, poseen la maquinaria bioquímica para sintetizar y degradar endocannabinoides.

Niveles bajos de AEA son beneficiosos para la implantación y el crecimiento del trofoblasto mientras el aumento de las concentraciones de AEA está asociado con el retraso del desarrollo embrionario y el aborto.

En un modelo de aborto séptico inducido por LPS observamos que la AEA media los mecanismos asociados a este evento como el aumento de óxido nítrico y de prostaglandinas tanto en útero como en decidua y en células del sistema inmune.

El pez cebra como herramienta para el estudio de patologías humanas

Weiner AMJ, Coux G, Mouguelar V, GrB

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET) – Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (Universidad Nacional de Rosario). calcaterra@ibr.gov.ar

Disertante: Nora B. Calcaterra

La investigación biomédica depende del uso de modelos animales para comprender la patogénesis de las enfermedades humanas a nivel molecular y celular como así también para proveer sistemas que permitan el desarrollo y estudio de nuevas terapias. En los últimos 20 años, el pez cebra (*Danio rerio*) ha emergido como un poderoso modelo de experimentación animal dado el alto grado de semejanza genética y fisiológica con el ser humano. Diversos modelos biomédicos de enfermedades humanas han sido establecidos exitosamente. Estos modelos, acoplados con la posibilidad de evaluar el efecto de numerosos compuestos químicos con potencial terapéutico, han marcado el nacimiento de una nueva etapa en biomedicina. Una etapa que sustenta su éxito en la investigación básica. El límite parece hallarse sólo en la imaginación de la comunidad científica y su capacidad de generar nuevos modelos en el pez cebra que se aproximen a enfermedades humanas.

Uno de los objetivos de nuestro laboratorio es desarrollar modelos en pez cebra que semejen patologías craneofaciales humanas. La mayoría de las anomalías congénitas que se detectan al momento del nacimiento corresponden a malformaciones craneofaciales que afectan el desarrollo del rostro, el cuello o la nuca. El pez cebra forma esencialmente las mismas estructuras craneofaciales que los humanos, pero organizadas en una manera más simple y con menor número de células. Esto, sumado a la existencia de genes ortólogos de humanos en

el genoma del pez cebra, abre un poderoso abanico de posibilidades para el estudio de este tipo de patologías.

En este trabajo presentamos el modelado del Síndrome de Treacher Collins (TCS) en pez cebra. El TCS es un desorden autosómico dominante del desarrollo craneofacial que ocurre con una incidencia de 1/50000 nacidos vivos, y resulta de la interferencia en el desarrollo del primer y segundo arco faríngeo. Las características clínicas del TCS incluyen anomalías del oído, hipoplasia de la mandíbula y del complejo cigomático, paladar partido, entre otros. El conocimiento de los mecanismos moleculares responsables de este síndrome es relativamente escaso, probablemente debido a la dificultad de reproducción de la patología en animales de experimentación. Es sabido que el TCS se origina por mutaciones heredadas o espontáneas en el gen *TCOF1*, que codifica la proteína Treacle. En nuestro laboratorio se identificó, clonó y caracterizó el gen ortólogo de *TCOF1* en pez cebra, *TCOF1*. La pérdida de función de *TCOF1* generó peces con fenotipos similares a los observados en pacientes de TCS, y permitió una mejor caracterización de los mecanismos que subyacen la malformación craneofacial. Además, hizo posible la identificación de posibles dianas moleculares de Treacle no reportadas previamente. En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que es posible modelar en pez cebra el TCS y, de esta forma, generar una condición experimental que facilite el estudio de la etiología de esta patología craneofacial.

Transportadores de endobióticos: participación en procesos fisiológicos y fisiopatológicos

El MRP4/ABCC4 entra en escena en la historia épica del AMPc: un nuevo actor con implicancias fisiopatológicas.

Prof. Dr. Carlos Davio. Laboratorio de Farmacología de Receptores. Cátedra de Química Medicinal. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. carlosdavio@hotmail.com

La transducción de señales extracelulares ocurre a través de distintos tipos de receptores, entre los que se encuentran los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs). Su papel resulta crucial, al punto que son el blanco de más del 25% de los agentes terapéuticos utilizados en el mercado y representan más del 50% de las ventas de la industria farmacéutica mundial. Numerosas señales extracelulares asociadas a GPCRs convergen en la producción de AMP cíclico (AMPc), existiendo una fina regulación a distintos niveles a fin de lograr especificidad de la señal. El AMPc fue el primer segundo mensajero intracelular descrito y su asociación a procesos metabólicos y relacionados al ciclo celular se ha incrementado en forma exponencial desde su descubrimiento al presente. El cáncer constituye hoy en día una de las principales causas de muerte humana. Debido a alta toxicidad y a la falta de especificidad de los tratamientos comúnmente utilizados resulta fundamental la búsqueda y descripción de blancos específicos que permitan definir novedosas estrategias de tratamiento. Desde sus comienzos, nuestro grupo de trabajo ha destinado sus investigaciones a los mecanismos de señalización mediados por receptores de histamina tipo 2 (rH2) y sus efectos sobre los procesos de proliferación y diferenciación celular leucémica. Hemos descrito que la histamina activa varios mecanismos involucrados en la inducción de la diferenciación, entre ellos un importante incremento en la producción de AMPc a través del rH2, pero debido a su rápida desensibilización no es capaz de desencadenarla. En tal sentido, demostramos la importancia no sólo de la duración sino también de la intensidad de la señal de AMPc sobre el proceso de diferenciación celular leucémica. Recientemente hemos demostrado la presencia de un mecanismo de exclu-

sión molecular de AMPc en diferentes modelos de leucemia mieloide aguda, aumentando la complejidad del sistema de la transducción de señales de los GPCR asociados a la vía del AMPc. De esta manera, los niveles de AMPc intracelulares (AMPci) resultan regulados no solo por las fosfodiesterasas de AMPc (PDEs) y la desensibilización de los receptores sino además, por proteínas de resistencia a multidrogas (MRPs), responsables de la exclusión del AMPc. El bloqueo específico de la expresión de MRP4 por shRNA permitió asignar a esta molécula un papel fundamental en el proceso de exclusión. Tanto el bloqueo farmacológico de MRPs, como la inhibición específica de MRP4, determinaron que el incremento en la intensidad y duración de la respuesta de AMPci conlleve a la inhibición de la proliferación asociada a la inducción de la diferenciación monocítica tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*. Estos resultados confirman el papel del AMPci en el proceso de maduración celular leucémica, aportando la primera evidencia experimental que MRP4 y la exclusión celular de AMPc representarían un nuevo blanco para terapias diferenciadoras en leucemias. Más aún, resultados recientes del laboratorio sugieren que los niveles de AMPc extracelular (AMPce) incrementados a expensas del transporte mediado por MRP4, dependiente de energía, cumplen un papel fundamental como factor autócrino de crecimiento.

Los avances que muestran la complejidad, la robustez y el tramado en forma de red de los procesos biológicos sugieren la necesidad de repensar la farmacología molecular. De esta forma la complejidad de los sistemas biológicos, en lugar de ser un obstáculo, puede ser explotada para el desarrollo de nuevos fármacos si se la comprende y analiza con este fin. En este contexto, en la presente exposición discutiremos el caso paradigmático del primer segundo mensajero intracelular descrito, el AMPc y su compleja red de transducción de señales. El fin último será redefinir potenciales blancos terapéuticos en el desarrollo futuro de nuevos fármacos más seguros y eficaces que puedan ser trasladados efectivamente a terapias aplicables en la clínica. Ningún descubrimiento se haría ya, si nos contentásemos con lo que sabemos.

MRP4/ABCC4 y factor natriurético atrial: una asociación beneficiosa en la fisiología del páncreas exócrino.

Dra. Liliana G. Bianciotti. Cátedra de Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Instituto de Genética, Inmunología y Metabolismo (INIGEM-CONICET)

El Factor Natriurético Atrial (ANF) cumple un papel relevante en el control de la función cardiovascular y renal. Si bien es principalmente sintetizado por cardiocitos atriales es también producido y liberado por otros tejidos como el tracto gastrointestinal y las glándulas anexas donde actúa como un factor autocrino/paracrino. Los efectos biológicos son mediados por los receptores de péptidos natriuréticos: NPR-A, NPR-B y NPR-C. Los receptores NPR-A y NPR-B están acoplados a la activación de guanilato ciclasa particulada, mientras que el receptor NPR-C contiene secuencias de activación de Gi en su dominio intracelular y su estimulación promueve la activación de fosfolipasa C (PLC) e inhibición de adenilato ciclasa. Las observaciones experimentales evidencian la importancia del ANF como regulador de la función digestiva, hecho avalado fuertemente por la presencia de su ARNm en el sistema digestivo y glándulas anexas, por las variaciones de su expresión genética en relación a los estados de ayuno y postprandial, por la distribución de sus receptores, particularmente el NPR-C y por sus acciones biológicas como la regulación de las secreciones digestivas y la motilidad gastrointestinal. En trabajos *in vivo* realizados en nuestro laboratorio mostramos que el ANF estimula la secreción pancreática exocrina de manera dosis dependiente e interacciona con las hormonas colecistoquinina y secretina a través del receptor NPR-C. A dosis umbrales de secretina y ANF se observa una potenciación de la secreción pancreática pero a medida que se incrementa la dosis de secretina, el ANF reduce la respuesta secretora de la hormona hasta anularla. En estudios realizados en acinos pancreáticos aislados observamos que el ANF desensibiliza la respuesta intracelular de secretina, al inhibir el aumento de

AMPC inducido por la hormona. Estudios diseñados a fin de evaluar el mecanismo subyacente mostraron que ANF a través del receptor NPR-C acoplado a la activación de PLC y proteína quinasa C (PKC) favorece la salida de AMPc de las células acinares pancreáticas. Este fenómeno mediado por ANF se observa asimismo en presencia del péptido intestinal vasoactivo (VIP) cuya respuesta secretora es de magnitud similar a secretina y también mediada por AMPc, pero no en presencia de otros agonistas secretagogos que señalizan por la misma vía pero cuya respuesta secretora es mucho menor. El eflujo de AMPc en el páncreas es probenecid sensible, lo que implica que está mediado por proteínas asociadas a resistencia a multidrogas (MPRs). De hecho mostramos que el páncreas exocrino expresa MRP4, MRP5 y MPR8, transportadores que median el eflujo de nucleótidos cíclicos en distintos tejidos. Como la evidencia experimental sustenta que MRP4 sería el responsable del eflujo de AMPc, realizamos estudios en la línea celular acinar pancreática AR42J con silenciamiento de MRP4 observando que la salida de AMPc se inhibe significativamente en estas células, indicando que el eflujo del segundo mensajero se produce a través de este transportador. Los niveles de AMPc están celosamente regulados a nivel intracelular a través de la acción de fosfodiesterasas y la desensibilización del receptor acoplado a Gs, pero el eflujo celular de AMPc constituiría un mecanismo adicional de control y que cobra especial importancia en el páncreas, ya que su incremento se asocia al desarrollo de pancreatitis aguda. Diversos estudios muestran que el aumento de AMPc intracelular en un contexto de activación de PLC sensibiliza los gránulos de zimógeno, lo que se traduce en la activación *in situ* de las enzimas pancreáticas que lleva ulteriormente al desarrollo de pancreatitis aguda. Estudios preliminares de nuestro laboratorio muestran que el ANF tendría un efecto protector en los eventos iniciales que disparan la pancreatitis aguda ya que reduce la activación de las enzimas pancreáticas, la respuesta inflamatoria y mejora las alteraciones celulares

Transportadores de Endobióticos: Participación en Procesos Fisiológicos y Fisiopatológicos (continuación)

que se producen. Numerosos estudios clínicos muestran que el ANF posee un papel protector y en muchos casos predictivo en patologías cardiovasculares. No obstante, cabe mencionar que sus efectos renales y cardiovasculares han sido extensamente estudiados tanto en condiciones fisiológicas como fisiopatológicas, mientras que sus efectos a nivel del sistema digestivo han comenzado a esclarecerse en los últimos años.

Regulación del ATP extracelular en eritrocitos humanos

Dr. Pablo J. Schwarzbaum. IQUIFIB. Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA.

Los eritrocitos humanos liberan ATP de manera no lítica en respuesta a varios estímulos fisiológicos y farmacológicos, como hipoxia, acidosis, estimulación beta adrenérgica y deformación mecánica. A nivel intracelular estos estímulos son transducidos a partir de una serie de eventos que involucran a proteínas G triméricas, isoformas específicas de adenilato ciclasas y proteína quinasa A.

En los pequeños capilares de la microcirculación, el ATP extracelular (ATPe) puede difundir a cortas distancias, interaccionar con receptores purinérgicos de eritrocitos y otras células sanguíneas, y/o ser degradado enzimáticamente por ectonucleotidasas. La interacción dinámica de esos procesos determina la cinética de ATPe, es decir, la evolución temporal en la acumulación de ATP en el medio extracelular.

Luego de exponer al eritrocito humano a estímulos que inducen la salida de ATP, se analizarán los mecanismos que regulan la cinética de ATPe y las consecuencias celulares y sistémicas. Además, combinando la aplicación de modelado matemático a los datos experimentales, con la repetición de experimentos claves utilizando eritrocitos de ratones KO para proteínas claves en la liberación de ATP, se aportará información relevante sobre los mecanismos que median el transporte transmembrana del nucleótido.

Financiación: UBA, CONICET, ANPCyT 0151.

Relevancia del transportador lisosomal de colesterol NPC1 en el hígado y cerebelo.

Silvana Zanlungo¹, Mary Carmen Vázquez¹, Mauricio González² y Alejandra Alvarez³. ¹Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²FONDAP-Centro de Regulación del Genoma (CRG), Santiago, Chile. ³Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

Introducción: NPC1 es una proteína de transmembrana localizada en endosomas tardíos y lisosomas e involucrada en el transporte de colesterol. Esta proteína es un componente clave para la distribución intracelular de colesterol obtenido mediante endocitosis mediada por receptores. Las mutaciones en el gen *NPC1* causan la enfermedad de Niemann Pick tipo C (NPC), que se caracteriza por acumulación intracelular de colesterol, muerte celular y daño en los tejidos, especialmente en hígado y cerebelo. Se ha descrito aumento de marcadores de estrés oxidativo en modelos de la enfermedad. Los mecanismos a través de los cuales la acumulación de colesterol lleva a la muerte celular aún no han sido claramente establecidos.

Objetivo: Determinar las vías de transducción de señales involucradas en el daño y muerte celular en hígado y cerebelo en un modelo murino deficiente de NPC1 (*NPC1^{-/-}*) y neuronas tipo NPC.

Métodos: Se utilizaron ratones controles y *NPC1^{-/-}* de 6-8 semanas de edad. Como modelos neuronales NPC se utilizaron cultivos primarios de neuronas de ratas controles, tratadas con la droga U18666A o neuronas obtenidas de ratones *NPC1^{-/-}*. En cerebelos e hígados de ratones *NPC1^{-/-}* se corroboró la acumulación intracelular de colesterol mediante técnicas bioquímicas y tinción para colesterol libre mediante filipina. Para analizar la presencia de daño oxidativo y muerte celular se realizaron análisis histológicos, se midió el contenido de glutatión y cobre y la formación de aductos proteicos carbonilados, la acumulación de proteínas nitrotirosiniladas y de aductos de 4-HNE. Para determinar alteraciones en la

defensa antioxidante se evaluó el nivel y distribución subcelular de vitamina E en hígado y cerebelo de los ratones y neuronas modelo NPC. En estos mismos tejidos se analizó el perfil de expresión génica mediante microarrays y qPCR. Paralelamente, en los modelos neuronales se evaluó la presencia de marcadores de estrés oxidativo. Para analizar la relevancia del estrés oxidativo en NPC en neuronas tratados con U18666A se evaluó la respuesta apoptótica en presencia o ausencia del antioxidante N-acetilcisteína (NAC) y en animales se evaluó el efecto de un tratamiento agudo con NAC sobre el daño hepático.

Resultados: Los ratones NPC1^{-/-} mostraron un aumento dramático en el contenido de colesterol hepático y la tinción para filipina en cerebelo. En cerebelos de ratones NPC observamos pérdida neuronal asociada a un aumento de marcadores de estrés oxidativo. En hígados de ratones NPC evidenciamos la presencia de signos de inflamación y fibrosis, una disminución en la capacidad antioxidante y un aumento del daño por estrés oxidativo y del contenido de cobre. Estas respuestas se correlacionaron con cambios en el perfil de expresión génica, particularmente en genes de inflamación, fibrosis y estrés oxidativo. Encontramos un aumento del contenido hepático de vitamina E, principalmente a nivel lisosomal, en los ratones NPC1^{-/-}. Esta alteración, junto con un aumento en marcadores de estrés oxidativo, también fue observada en neuronas modelo NPC, lo que sugiere una menor biodisponibilidad de este antioxidante en la enfermedad. El tratamiento con NAC disminuyó la muerte de neuronas tipo NPC y en animales disminuyó la inflamación hepática.

Conclusiones: La deficiencia de NPC1 es relevante y se asocia a alteraciones en el contenido de colesterol, cobre y vitamina E y a un aumento del daño por estrés oxidativo, el que podría participar en la muerte celular en hígado y cerebelo.

Financiado por proyectos Fondecyt 3100026 (MCV), 1110310 (SZ) y Proyecto FONDAP-Centro de Regulación del Genoma (CRG) 15090007.

Regeneración y Muerte Celular Cardíaca: Nuevos Enfoques

Señalización intracelular en el remodelamiento postinfarto

Dra. Irene L. Ennis. Centro de Investigaciones Cardiovasculares Facultad de Ciencias Médicas UNLP-CONICET.

El remodelamiento cardíaco posterior al infarto agudo de miocardio (IAM) es una forma particular de hipertrofia cardíaca patológica con un fenotipo caracterizado por el aumento del espesor de la pared ventricular en la región no infartada y la dilatación de la cavidad. Ocurre en el miocardio remanente como consecuencia del estrés hemodinámico mixto (de presión y de volumen) al que resulta sometido el ventrículo luego de la pérdida de masa contráctil. Es un proceso dominado por cambios celulares y moleculares que no sólo involucran a los cardiomiocitos sino también a la matriz extracelular y a varias moléculas activas de la misma, tales como las metaloproteinasas. El disparador de este proceso parece ser el estiramiento del miocardio no infartado que desencadena un mecanismo autocrino/paracrino de liberación de factores neurohumorales (angiotensina II, endotelina 1, aldosterona y factor de crecimiento epidérmico unido a heparina) y activación de cascadas de señalización intracelular que finalmente promueven la transcripción génica y la síntesis proteica. En esta cascada de eventos el aumento de la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) y la isoforma cardíaca del intercambiador Na^+/H^+ (NHE-1) desempeñan un papel crítico. Las EROs, de origen mitocondrial, serían las responsables de la activación de una cascada redox-sensible de proteínas quinasas (MEK-ERK1/2-p90RSK) que a través de la fosforilación del extremo citosólico carboxilo terminal del NHE-1 estimulan su actividad. La hiperactividad del NHE-1 provoca una sobrecarga de Na^+ intracelular que favorece el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular a través del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. El aumento sostenido de la concentración de Ca^{2+} intracelular activa vías prohipertroóficas, en particular la de la fosfatasa calcineurina, responsables del aumento de la actividad transcripcional y del desarrollo de hipertrofia cardíaca patológica. El papel protagónico del NHE-1 en la respuesta del miocardio

luego de un IAM ha sido corroborado en distintos estudios experimentales. La inhibición farmacológica selectiva del intercambiador ha demostrado reducir significativamente el tamaño del IAM y mejorar la función y el remodelamiento post-IAM, aun cuando se inicie tardíamente (2-4 semanas post IAM). Estos hallazgos experimentales promovieron el diseño y la realización de ensayos clínicos (GUARDIAN, ESCAMI, EXPEDITION) cuyos resultados si bien en algún caso fueron promisorios no han sido concluyentes.

CaMKII: intermediario común de diversos estímulos apoptóticos

Dr. Martín Vila Petroff. Facultad de Ciencias Médicas UNLP-CONICET.

La proteína quinasa II dependiente de Ca^{2+} y calmodulina (CaMKII) es una quinasa ubicua que es activada por Ca^{2+} intracelular siendo su isoforma δ la que predominante en el corazón. La CaMKII es una serina/treonina quinasa que fosforila una amplia gama de proteínas en respuesta al aumento del intracelular y entre sus funciones más estudiadas se encuentran la regulación de mecanismos fisiológicos de la célula cardíaca como el acoplamiento eléctrico contráctil (AEC), el fenómeno de la escalera, el potencial de acción, a través de la modulación de sus corrientes, y la transcripción génica. Por otra parte, la expresión de la CaMKII se halla aumentada en la insuficiencia cardíaca (IC) y actualmente es reconocido que su inhibición protege a los cardiomiocitos de la apoptosis inducida por activación crónica de receptores b-adrenérgicos. Sin embargo, si la CaMKII es un intermediario común de diversos estímulos e insultos que conducen a la IC aun no ha sido determinado. Teniendo en cuenta que la pérdida de miocitos por apoptosis es uno de los mecanismos que determinan la progresión hacia la IC, conocer si la CaMKII es un punto neurálgico en la señalización de diversos estímulos apoptóticos resulta de sumo interés. En el presente estudio demostramos que la CaMKII está involucrada en la apoptosis inducida por isquemia y reperfusión (I/R), en el tratamiento crónico con Angiotensina II

(AngII), en la sobrecarga de Na⁺ inducida por digitálicos, y en la taquicardia crónica, todos conocidos inductores de IC. Demostramos además, que la forma de activación de CaMKII puede diferir entre los distintos inductores de IC. Así, en I/R y en la sobrecarga de Na⁺, la CaMKII se activa de manera clásica, por un aumento del Ca²⁺ citosólico, en tanto que en el tratamiento crónico con AngII, la quinasa se puede activar a través de su oxidación por especies reactivas del oxígeno (ROS) y de manera Ca²⁺-independiente. Estos resultados sugieren, no solo que la activación de CaMKII sería un intermediario común por el que distintos estímulos inductores de IC promueven apoptosis sino además, que su activación estaría favorecida en los distintos modelos que conducen a la IC, independientemente de si están asociados o no a un aumento del Ca²⁺ intracelular.

Mioblastos esqueléticos en la regeneración cardíaca. Vino nuevo en odres viejos.

Dr. Rubén Laguens. Universidad y Hospital Universitario. Fundación Favaloro

Después de la muerte de cardiocitos, como ocurre en el infarto de miocardio, la pérdida de células contráctiles es reemplazada por una cicatriz de colágeno. Además de las potenciales arritmias generadas por esa cicatriz conectiva, si la pérdida celular comprende una proporción significativa de la masa ventricular, el miocardio viable remanente desarrolla un proceso complejo, llamado remodelación cardíaca, caracterizado por hipertrofia y muerte miocítica y angiogénesis. En lapsos variables, habitualmente de no más de cinco años, la remodelación, inicialmente adaptativa, termina en una falla contráctil irreversible. La insuficiencia cardíaca representa hoy una de las mayores causas de mortalidad humana.

Pese al importante aporte que han significado los avances farmacológicos o el desarrollo de sistemas mecánicos de asistencia ventricular, el trasplante cardíaco representa en la actualidad la única opción terapéutica para pacientes en la etapa final de esta condición. Por esa razón las estrategias regenerativas que tienden a mejorar la función restaurando

cardiocitos acoplados eléctricamente al miocardio viable remanente representan en la actualidad una de las áreas de investigación de mayor desarrollo e inversión económica.

Si bien desde un punto de vista racional la mejor opción sería inducir la replicación de los miocitos remanentes en células hijas, dado que permanecerían acopladas al sincitio eléctrico, o a replicar y diferenciar una población de miocardioblastos residentes en células adultas, hasta la actualidad no se han comunicado resultados significativos. Otra opción consiste en reemplazar las células faltantes introduciendo en el miocardio células exógenas.

En lo que va del siglo se han realizado numerosos intentos con variedades diferentes de células. Entre las primeras se encuentran los mioblastos esqueléticos (células satélites). Las mayores razones para esta elección fueron la facilidad de obtención por biopsia, su crecimiento en medio de cultivo convencionales, lo que permite obtener grandes cantidades para ser implantadas en el mismo paciente, sin necesidad de inmunosupresión, su persistencia en el corazón durante largo tiempo y la resistencia a la hipoxia. Sin embargo, uno de sus mayores desventajas es son incapaces de establecer conexiones con los miocardiocitos.

En estudios iniciales se las implantó en cicatrices de infarto de miocardio con resultados positivos, pese a que producía un incremento significativo de arritmias, por lo que solamente se autorizó su aplicación solamente en pacientes con desfibriladores implantables. La publicación cuatro años atrás del resultado del mayor ensayo clínico en pacientes con insuficiencia cardíaca post infarto, en el que se demostró que no mejoraba la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, motivo la casi suspensión de las investigaciones, que se orientaron al empleo de otras variedades celulares. Entre ellas, las células progenitoras residentes en el corazón y las mesenquimales de la médula ósea se cuentan entre las de mayor interés actual, y con la que se han realizado ensayos clínicos en fase I. El mayor problema que presentan estas células es su corta persistencia en el miocardio, de no más de unos pocos días, y para el caso de las “stem” cardíacas, la necesidad de realizar cultivos engo-

Regeneración y Muerte Celular Cardíaca: Nuevos Enfoques (continuación)

rosos, prolongados en el tiempo, provenientes de biopsias endomiocárdicas de los mismos pacientes a inyectar.

Durante los tres últimos años se reavivó el interés en el uso de mioblastos esqueléticos merced a cuatro circunstancias:

- La introducción en el mercado de placas de cultivo termosensibles que permiten en despegue de monocapas celulares como una lámina que puede ser aplicada sobre el corazón.
- Nuevos ensayos clínicos sobre miocardiopatía dilatada no isquémica en los que se demostró que la inoculación intramiocárdica de estas células mejora la función cardíaca.
- El descubrimiento en el músculo esquelético de una nueva población de células “stem” con capacidad de diferenciarse en miocardiocitos.
- El empleo de mioblastos esqueléticos transfectados con o vectores diferentes genes, en especial los que codifican factores de crecimiento, que actúan sobre la angiogénesis y repliación miocítica.

Nuestro laboratorio desarrolla actualmente ensayos con láminas de mioblastos esqueléticos y con la inoculación intramiocárdica de mioblastos transfectados con diferentes genes sobre la evolución del infarto experimental en un modelo ovino.

Vectores virales de alta capacidad y magnetofección como tecnologías para la implementación de terapia génica y celular

José I. Schwerdt, Rodolfo G. Goya. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP)-Histología B-Patología B, Facultad de Medicina, UNLP, La Plata

La terapia génica, que puede definirse como la transferencia de genes con fines terapéuticos, es una metodología de creciente interés en medicina cardiovascular, particularmente en relación al tratamiento de la isquemia de miocardio. El desarrollo de la técnica denominada angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) permite un acceso físico de moderada in-

vasividad a sectores coronarios específicos lo cual, combinado con la colocación intracoronaria de stents liberadores de droga, abre la posibilidad de administrar localmente vectores portadores de genes terapéuticos. Los vectores génicos constituyen también la base biotecnológica para la reprogramación de células somáticas a cardiomiocitos por transdiferenciación directa o a través de una inducción previa hacia células pluripotentes que al igual que las células madre embrionarias, pueden ser inducidas a diferenciarse en cardiomiocitos en presencia de moléculas inductoras apropiadas. En esta presentación se describirá brevemente la estructura y función de diferentes tipos de vectores adenovirales que construimos y aplicamos en nuestro laboratorio, mencionándose también la técnica de transferencia génica asistida por campos magnéticos, que se basa en la asociación de vectores virales con nanopartículas magnéticas a fin de optimizar la transferencia génica en células en presencia de un campo magnético externo.

En esencia, un vector adenoviral es un adenovirus que se ha modificado genéticamente para transportar el gen terapéutico que nos interesa transferir. Los vectores adenovirales más simples de construir son los denominados adenovectores de primera generación en los que se han deletado del ADN viral los genes tempranos E1a y E1b, que son esenciales para la replicación del virus convirtiéndolos así en vectores replicación-deficientes. El espacio virtual en el genoma viral dejado por la delección se utiliza para insertar un minicasete de expresión constituido por un promotor potente (generalmente de origen viral), el gen terapéutico y una secuencia terminal de ADN denominada señal de poliadenilación que facilita la traducción del mRNA del transgén.

Los adenovectores de primera generación son relativamente simples de producir y se los puede purificar con alto título (hasta 10^{12} unidades formadoras de placa (pfu) /ml). Su mayor limitación es que los genes virales remanentes expresan proteínas que son reconocidas por el hospedante generando en corto plazo una respuesta inmune que elimina las células transducidas por el vector y por consiguiente la producción del gen terapéutico. Por esta razón los adenovec-

tores de primera generación son solo útiles para tratamientos de corto plazo (30-45 días).

Un tipo más avanzado de vectores adenovirales son los denominados helper-dependent (HD) o evicerados pues en ellos se han deletado todos los genes virales reemplazándolos por un ADN no codificante de relleno. En estos vectores de alta capacidad se pueden clonar sistemas multigénicos de gran tamaño (de hasta unos 25 Kbp, contra 8Kbp de los de 1º generación). Como los adenovectores HD no expresan genes virales son de muy baja inmunogenicidad y permiten la implementación de terapia génica de largo plazo (años).

Los vectores adenovirales más comunes poseen un único transgén y se encuentran bajo el control de un promotor viral constitutivo promiscuo, que es activo en virtualmente todos los tipos celulares. En nuestro laboratorio hemos construido sistemas génicos regulables bidireccionales y los hemos clonado en nuestros vectores adenovirales. Estos sistemas permiten la expresión simultánea de dos transgenes que se encuentran bajo el control de un promotor bidireccional regulable por el antibiótico doxiciclina que actúa como un regulador inhibitorio. Generalmente uno de los transgenes codifica para una proteína fluorescente indicadora y el otro para un péptido terapéutico. Se discutirán las diferentes aplicaciones de los vectores descritos.

Cilios Primarios: Biología y Fisiopatología del Sistema Sensorial Celular

Transporte Catiónico en la Membrana del Cilio Primario. Posibles Implicancias en la Función Ciliar

Dra. María del Rocío Cantero. Cátedra de Biofísica. Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires

El cilio primario es una organela sensorial inmóvil que se extiende de la superficie de la mayoría de las células eucariotas. Su estructura es un axonema formado por microtúbulos de estructura 9+0. La membrana que rodea a dicho axonema interactúa con el medio externo, constituyendo un elemento sensor fundamental. Trabajos de nuestro laboratorio permitieron aislar cilios primarios y realizar mediciones electrofisiológicas mediante la técnica del *patch clamp* y de reconstitución en bicapas lipídicas (Raychowdhury y cols 2005, 2009). Se determinó la presencia del canal ENaC y canales TRP como la policistina-2 (TRPP2, PC2) y el TRPC1, lo que es de particular interés dada la capacidad de ambos TRP de formar complejos funcionales (Zhang y cols, 2009). Particularmente, hemos demostrado la existencia de corrientes cationicas a través de la PC2 proveniente del cilio primario de las células epiteliales renales LLC-PK1. La funcionalidad y regulación de los canales presentes en la membrana ciliar sería relevante para la traducción de señales desde el exterior hacia el interior de la célula. Hemos demostrado que la PC2 está altamente expresada en el cilio primario, particularmente concentrada en su base, lo que evidencia la importancia de su estudio para comprender la fisiología del mismo. Recientemente, se ha reportado que el Li⁺, fármaco utilizado en el tratamiento de la enfermedad bipolar, produce el alargamiento del cilio primario en varios tipos celulares, lo que representaría una señal para la célula. Siendo el Li⁺ un catión monovalente y, considerando la capacidad para permear cationes, y la alta densidad de la PC2 en el cilio primario, se evaluó el transporte de dicho catión a través de la misma. Se reconstituyó a la PC2 producto de traducción *in vitro* en un sistema de bicapas lipídicas en condiciones químicas diferentes, tales como gradientes químicos de Li⁺ y/o K⁺ (150 mM versus 15 mM), como así en

diferentes concentraciones simétricas de estos cationes. Se observó que el Li⁺ inhibe la función de la PC2 cuando es agregado desde la cara externa del canal, modificando a la vez el potencial de reversión (Cantero y Cantiello, 2011). Se evaluaron modelos energéticos basados en la teoría de velocidades absolutas de Eyring para estudiar el(los) mecanismo(s) de transporte e inhibición por Li⁺ de la PC2. Los datos indicaron que la PC2 tendría un sitio de alta afinidad para el Li⁺ y una estructura de poro asimétrica. Estos resultados permiten postular la hipótesis de que la presencia de Li⁺ produciría el alargamiento del cilio primario como consecuencia de la reducción del transporte de cationes como el Ca²⁺, que es un agente despolimerizador de los microtúbulos, modificando así el largo de la organela. Estos resultados permitirían avanzar en el conocimiento de las propiedades eléctricas de la membrana ciliar, esencial para su función sensorial y cuyos detalles se desconocen.

Relaciones estructura-función en el cilio primario. Conexión entre canales y microtúbulos

Dr. Horacio F. Cantiello. Cátedra de Biofísica. Facultad de Odontología. UBA y CONICET.

El cilio primario (CP) es una organela considerada históricamente un apéndice vestigial de las células eucariotas. Recientemente se le atribuyen funciones sensoriales relevantes. Varias enfermedades quísticas, como las poliquistosis renales están asociadas a la disfunción ciliar, llamadas "ciliopatías". El CP está constituido por un axonema, conformado por microtúbulos (MTs), que regularía la estructura y función celulares. El CP está recubierto por una membrana con propiedades únicas y poco conocidas. Estudios recientes indican que la policistina-2 (PC2), canal cationico TRP no selectivo, está presente en el CP de células epiteliales renales. Los MTs son reguladores de canales iónicos. Hemos evaluado la regulación por MTs, de la función de PC2 de distintos

orígenes, incluidas las membranas ciliares de células epiteliales. Los efectos con colchicina, taxol, tubulina y GTP indicaron que los MTs y sus proteínas motoras asociadas, como la KIF3A, controlan la actividad de la PC2. Dada la importancia de la misma, y otros canales TRP en el movimiento de Ca^{2+} , recientemente nos hemos abocado a estudiar las propiedades de este catión en la transducción de señales en los MTs. Los MTs son cilindros huecos de dímeros de alfa y beta-tubulina. Hemos demostrado que los MTs se comportan como transistores biomoleculares capaces de amplificar señales eléctricas, medidas mediante una técnica derivada del “patch-clamp”. Estos datos proporcionaron la primera evidencia experimental de que los MTs procesarían información eléctrica, lo que sería un mecanismo novedoso de señalización celular. Más recientemente, demostramos que la concentración citoplasmática de Ca^{2+} , modula estas propiedades de los MTs. Mientras que un aumento en la concentración de Ca^{2+} incrementó la amplificación eléctrica por MTs, la transferencia de energía fue mayor a bajas concentraciones. Esto permitió hipotetizar que el Ca^{2+} asociado a la superficie del polímero, regularía las propiedades eléctricas de los MTs. Para poder explorar la distribución de cargas en la superficie del MT, se realizó un mapeo eléctrico de estructuras microtubulares por microscopía de potenciales de superficie (MPS) y acoplado a microscopía de fuerza atómica (AFM). Se encontró una fuerte correlación lineal entre la magnitud del potencial de superficie y los parámetros físicos del MT. Se observó la presencia de fisuras topológicas a lo largo de su superficie, lo que podría contribuir a sus propiedades eléctricas. Nuestra hipótesis es que el Ca^{2+} intraciliar, controlaría tanto la amplificación eléctrica del MT, como el acoplamiento de señales eléctricas transferidas axialmente, siendo el polímero una línea de transmisión eléctrica amplificadora. A partir de los datos obtenidos y las teorías existentes, se postula un modelo sensorial del cilio primario, donde los MTs controlarían la función de canales ciliares, cuyo transporte de Ca^{2+} controlaría la transmisión de señales eléctricas por los MTs.

El Cilio Primario en Colangiocarcinoma. ¿Una Organela Supresora de Tumores?

Dr. Sergio A. Gradilone. Clínica Mayo. Rochester, MN, EEUU.

Los cilios primarios son organelos multisensores que se proyectan como una antena hacia el exterior celular y se expresan en la mayoría de las células epiteliales. Los cilios se encuentran ausentes en ciertas células tumorales, pero los mecanismos responsables de la pérdida de los cilios, así como la función de los mismos en la biología tumoral son aún desconocidos. Los colangiocitos, células epiteliales que conforman el árbol biliar hepático, normalmente contienen cilios primarios y la interacción de los mismos con distintos componentes de la bilis regula una variedad de procesos celulares, incluyendo la proliferación celular y la secreción de solutos a bilis. Utilizando al colangiocarcinoma (CCA) como modelo, encontramos que los cilios están reducidos en el tumor mediante un mecanismo dependiente de la enzima histona deacetilasa 6 (HDAC6). Mediante técnicas moleculares o químicas es posible eliminar los cilios primarios de células normales. Nuestros estudios muestran que el deciliado experimental de colangiocitos normales promueve la proliferación celular e induce el crecimiento independiente de anclaje. El deciliado indujo además la activación de dos vías de señalización importantes para el desarrollo del tumor, Hedgehog y MAPK. Explorando las posibles causas por las cuales las células tumorales carecen del cilio, encontramos que HDAC6 se encuentra sobreexpresada en CCA. HDAC6 es en realidad una enzima citoplasmática, cuyo principal sustrato es la α -tubulina. La base estructural del cilio, el axonema, está conformado por microtúbulos estables cuya tubulina se encuentra acetilada. La desacetilación mediante HDAC6, desestabiliza el axonema y promueve la reabsorción del cilio primario. La sobreexpresión experimental de HDAC6 en colangiocitos normales induce la pérdida del cilio, y aumenta tanto la proliferación como el crecimiento independiente de anclaje. Para evaluar el efecto de la restauración del cilio en células tumorales, usamos a HDAC6 como blanco, tanto por medio de técni-

Cilios Primarios: Biología y Fisiopatología del Sistema Sensorial Celular

(continuación)

cas de interferencia del ARN como por el uso del inhibidor farmacológico tubastatina-A. Ambos procedimientos restauraron la expresión del cilio primario en líneas celulares de CCA y disminuyeron la proliferación y el crecimiento independiente de anclaje. El efecto antitumoral de tubastatina-A no fue observado cuando se utilizaron células tumorales imposibilitadas de regenerar el cilio, mediante la introducción estable de un vector de silenciamiento para una proteína estructural clave para la biogénesis del cilio. Finalmente, el uso de tubastatina-A para inhibir HDAC6 produjo también una notable disminución del crecimiento tumoral en un modelo animal de CCA. Resumiendo, nuestros datos sugieren un papel clave de los cilios primarios en la transformación maligna, proveen un posible mecanismo de acción y permiten proponer a la restauración de la expresión del cilio primario en las células tumorales como un posible tratamiento terapéutico.

Entendiendo la base celular de las ciliopatías

Dr. José L. Badano. Instituto Pasteur Montevideo. Uruguay.

En contraste con los cilios móviles y flagelos, donde un rol en el movimiento de fluidos y locomoción celular ha sido reconocido desde hace años, la función biológica de los cilios primarios, en su mayoría inmóviles, ha comenzado a entenderse más recientemente. Los cilios primarios son organelos evolutivamente conservados presentes en la gran mayoría de los tipos celulares del cuerpo humano. Hoy día, sabemos que el mal funcionamiento de estos organelos está causalmente asociado a un número de enfermedades humanas denominadas colectivamente ciliopatías. Esta categoría de patologías humanas incluye un número de enfermedades que van desde fenotipos relativamente restringidos a un único órgano, como puede ser la poliquistosis renal, hasta síndromes altamente pleiotrópicos. Un ejemplo y modelo de ciliopatía es el síndrome de Bardet-Biedl (BBS), una enfermedad caracterizada primariamente por la obesidad, polidactilia, retardo

mental, degeneración de la retina, malformaciones renales y gonadales que a menudo incluyen características adicionales tales como asma, diabetes, situs inversus, anosmia y enfermedades congénitas de corazón. Hoy día comenzamos a entender la base celular de estas patologías. Distintas líneas de investigación están demostrando que los cilios primarios cumplen un rol fundamental en la recepción e integración de distintos tipos de estímulos que llegan a las células y por tanto son estructuras críticas para integrar y coordinar la vida celular con el medio que la rodea. En este sentido cabe destacar que los cilios primarios no solo cumplen un rol como mecano- y quimio-sensores sino que participan activamente en la transducción de distintas vías de señalización parácrina. Por tanto, la caracterización del rol biológico de distintas proteínas que cuando ausentes o defectuosas causan las ciliopatías está brindando información crítica para entender la biología básica de los cilios así como para elucidar la base celular y molecular de los distintos aspectos clínicos que caracterizan a las ciliopatías.

Blancos Fisiológicos del Estrés Oxidativo

La teoría de los radicales libres del envejecimiento: ¿Sigue siendo válida?

Prof. Dr. José Viña Ribes, Departamento de Fisiología, Universidad de Valencia, España.

El postulado de la teoría de los radicales libres en el envejecimiento se basa en el trabajo de la investigadora argentina, la Dra. Rebeca Gershan (1). Aproximadamente un año después, el Dr. Denham Harman declaró textualmente que: “El envejecimiento y las enfermedades degenerativas asociadas a ella se atribuyen básicamente a los efectos secundarios perjudiciales de los radicales libres sobre los componentes celulares y el tejido conectivo” (2). Más tarde, el Dr. Jaime Miquel propuso que las mitocondrias son el origen y el destino del ataque de los radicales en el envejecimiento. Nuestro laboratorio (3) y el del Dr. Bruce Ames (4) proporcionaron evidencia experimental de la decadencia mitocondrial en el envejecimiento.

Un postulado crítico de la teoría de los radicales libres del envejecimiento plantea que la tasa de producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) está asociada con el grado de envejecimiento. Esta teoría ha recibido abundante apoyo de las observaciones provenientes de campos tan distantes como la fisiología comparada (los animales de vida más corta producen más ROS a nivel mitocondrial) (5) o de la biología molecular (animales, especialmente invertebrados, en los que las enzimas antioxidantes están sobre-expresadas tienen una sobrevida mayor que los controles) (6). Algunos trabajos de nuestro laboratorio apoyan la teoría. Por ejemplo, las mitocondrias de las hembras producen menos peróxidos sólo en aquellas especies en las que la mujer vive más que el varón (como la rata *Wistar* o el humano) (7). Ratones que sobre-expresan *Arf/p53* viven más que los controles (8), hecho que se atribuye, al menos en parte, a las propiedades antioxidantes de *p53*, que activa la expresión de *sestrina*.

Por otro lado, existen resultados que no se correlacionan con la teoría de los radicales libres del envejecimiento. Por ejemplo, los ratones transgénicos para telomerasa

presentan mayor longevidad, pero no muestran una especial protección contra el daño que producen los radicales libres (9). El descubrimiento de que los radicales libres además de causar daño molecular a las células también actúan como señales de transducción, esclareció la propuesta de que estas moléculas no sólo podrían causar daños, sino también activar las señales celulares para modular los procesos fisiológicos. Por ejemplo, trabajos realizados en nuestro laboratorio demostraron que las ROS estimulan las adaptaciones fisiológicas que se desencadenan durante el ejercicio físico (10). Un golpe crítico a la teoría de los radicales libres del envejecimiento provino de estudios epidemiológicos que muestran que la suplementación con antioxidantes no disminuye la incidencia de muchas enfermedades asociadas con la edad, y, en algunos casos, aumentó el riesgo de muerte (11, 12). Evidencia reciente en el campo molecular, ha demostrado que la generación creciente de ROS puede, en algunos casos, aumentar la longevidad (13, 14).

La revisión de la literatura más reciente indica que hay una discrepancia clara entre los autores que van desde apoyar explícitamente la idea de el estrés oxidativo como responsable del envejecimiento diciendo: “estos resultados proporcionan un claro apoyo para la teoría de los radicales libres del envejecimiento” (15,16) a un desacuerdo frontal es decir, “el daño que producen las ROS no es el desencadenante inicial ni el principal efector del proceso de envejecimiento” (17) o “nuestros datos cuestionan seriamente la hipótesis de que las alteraciones en el daño oxidativo o estrés oxidativo tienen un papel en la longevidad de los ratones” (18).

Por lo tanto, los gerontólogos interesados en la biología de los radicales libres se encuentran en una encrucijada y claramente nuevos puntos de vista sean necesarios para allanar el camino de la investigación y tratar de entender el proceso de envejecimiento. Los obstáculos son, sin duda, muchos, pero el potencial intelectual y práctico de estos estudios es de tal magnitud que creemos que todos los esfuerzos serán generosamente compensados.

Blancos Fisiológicos del Estrés Oxidativo (continuación)

REFERENCIAS

- 1.- Gerschman, R., Gilbert, D.L., Nye, S.W., Dwyer, P., Fenn, W.O. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common (1954). *Science* 119, 623-626.
- 2.- Harman D., Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. (1956) *J Gerontol.* 11:298-300.
- 3.- Sastre, J., Pallardó, F.V., Plá, R., Pellín, A., Juan, G., O'Connor, E., Estrela, J.M., Miquel, J., Viña, J. (1996) Aging of the liver: Age-associated mitochondrial damage in intact hepatocytes *Hepatology* 24: 1199 – 1205
- 4.- Hagen TM, Yowe DL, Bartholomew JC, Wehr CM, Do KL, Park JY, Ames BN. (1997) Mitochondrial decay in hepatocytes from old rats: membrane potential declines, heterogeneity and oxidants increase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94:3064-9.
- 5.- Barja, G., Herrero, A. (2000) Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum life span in the heart and brain of mammals. *FASEB Journal.* 14: 312-318.
- 6.- Legan SK, Rebrin I, Mockett RJ, Radyuk SN, Klichko VI, Sohal RS, Orr WC (2008) . Overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase extends the life span of *Drosophila melanogaster*. *J Biol Chem.* 283: 32492-9.
- 7.- Borrás, C., Sastre, J., García-Sala, D., Lloret, A., Pallardó, F.V., Viña, J. (2003) Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males *Free Radical Biology & Medicine* 34: 546 – 552
- 8.- Matheu, A., Maraver, A., Klatt, P., Flores, I., García-Cao, I., Borrás, C., Flores, J.M., Viña, J., Blasco, M.A., Serrano, M. (2007) Delayed aging through damage protection by the Arf/p53 pathway *Nature* 448: 375 - 379
- 9.- Tomás-Loba A., Flores I., Fernández-Marcos P.J., Cayuela M.L., Maraver A., Tejera A., Borrás C., Matheu A., Klatt P., Flores J.M., Viña J., Serrano M., Blasco M.A. (2008) Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice *Cell* 14;135(4): 609-22
- 10.- Gomez-Cabrera, M.C., Borrás, C., Pallardó, F.V., Sastre, J., Ji, L.L., Viña, J. (2005) Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol.* 567 :113-20.
- 11.- Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold JM, Ross C, Arnold A, Sleight P, Probstfield J, Dagenais GR; HOPE and HOPE-TOO Trial Investigators. (2005) Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA.* 293:1338-47.
- 12.- Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. (2004) Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 364:1219-28.
- 13.- Yang W, Hekimi S (2010) A Mitochondrial Superoxide Signal Triggers Increased Longevity in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol* 8(12): e1000556. doi:10.1371/journal.pbio.1000556
- 14.- Ristow M, Zarse K. (2010). How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp Gerontol.* 45(6):410-8
- 15.- Nemoto S, Finkel T. (2004) Ageing and the mystery at Arles. *Nature.* 429:149-52.
- 16.- Moosmann B, Behl C. (2008) Mitochondrially encoded cysteine predicts animal lifespan *Aging Cell.* 7:32-46.
- 17.- Hekimi, S., Lapointe, J., Wen, Y (2011) Taking a "good" look at free radicals in the aging process *Trends in Cell Biology* (in press)
- 18.- Pérez VI, Bokov A, Van Remmen H, Mele J, Ran Q, Ikeno Y, Richardson A. (2009) Is the oxidative stress theory of aging dead? *Biochim Biophys Acta.* 1790:1005-14.

Disfunción mitocondrial, daño oxidativo y las enfermedades neurodegenerativas.

Dr. Alberto Boveris. Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL, UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

La importancia fundamental del estado redox del NADH/NAD ha sido re-elaborada a partir del papel de esta coenzima como nexo citosol/mitocondria y como generadora de energía en los órganos aeróbicos de mamíferos, para adicionarle un papel central en la regulación del estado redox celular, léase el estado redox del par citosólico GSH/GSSG. La capacidad transductora de energía (del O₂ al ATP) es esencial para el mantenimiento de la función neurológica, dada la naturaleza fuertemente endergónica del funcionamiento de la NaK-ATPasa y de la transmisión del impulso nervioso. La disfunción mitocondrial neuronal es una característica común del envejecimiento en mamíferos y de las enfermedades neurodegenerativas humanas (Parkinson, Alzheimer y demencia con cuerpos de Lewy). Las comunicaciones entre las mitocondrias y el citosol a través del estado redox del par GSH/GSSG, mediado por el estado redox del par NADPH/NADP, establecen un dispositivo regulatorio maestro que controla igualmente los niveles energéticos celulares (ATP) y el estado redox (GSH). El desajuste de este dispositivo regulatorio es crítico en el envejecimiento y en los estadios iniciales de las enfermedades neurodegenerativas. La disfunción mitocondrial, con actividades fuertemente disminuidas (40-50 %) de los complejos I y IV, es características del envejecimiento de los mamíferos y de la corteza cerebral humana, en los pacientes con enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer y demencia con cuerpos de Lewy). Igualmente, un cambio hacia la oxidación del par GSH/GSSG es evidente en el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas. Una caracterización de la función mitocondrial y de los mecanismos de señalización citosólica, especialmente en las transcripciones de la biogénesis mitocondrial del ciclo celular, proveerá nuevas estrategias para restaurar el "redox-energy axis" cerebral comprometido en el envejecimiento y en las fases iniciales de las enfermedades neurodegenerativas.

Programación fetal de enfermedades en el adulto. ¿Es mediada por el estrés oxidativo?

Dra. Cristina Arranz. Profesora Titular de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Investigadora Independiente CONICET

La calidad y cantidad de nutrientes consumidos durante el embarazo tienen efectos permanentes sobre el desarrollo del feto. Barker DJ y cols. fueron los primeros en describir que el bajo peso al nacer estaba asociado con un mayor riesgo de muerte por enfermedades cardiovasculares. Múltiples estudios epidemiológicos y experimentales encontraron asociaciones entre la calidad del crecimiento pre y/o postnatal y el mayor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como la diabetes tipo II, la hipertensión arterial, la obesidad, la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico en la edad adulta.

La hipótesis de programación fetal sugiere que una injuria durante la vida fetal, que conduce a un crecimiento intrauterino restringido, no solo resulta en un bajo peso al nacer, sino también pone en marcha respuestas adaptativas que pueden llevar a la pérdida de unidades estructurales (nefrones, cardiomiocitos, células pancreáticas β , células de músculo esquelético) para adaptarse a esa situación y asegurar la adecuada nutrición de órganos obligatorios como el cerebro.

Las evidencias indican que el ambiente intrauterino puede afectar el desarrollo fetal mediante múltiples mecanismos e inducir adaptaciones fetales durante periodos críticos de la organogénesis, que determinan la capacidad funcional de los sistemas cardiovascular y renal. Dentro de estos mecanismos se encuentran cambios epigenéticos, alteraciones morfológicas, aumento de estrés oxidativo, procesos inflamatorios, procesos apoptóticos y alteraciones hormonales y metabólicas.

La injuria nutricional no solo se refiere a desnutrición global, proteica sino que incluye la deficiencia de minerales y vitaminas, como zinc, hierro, calcio, vitamina A y vitamina D, que son necesarios en pequeñas cantidades para procesos bioquímicos y metabólicos. La deficiencia de micronutrientes, conocida también como desnutrición oculta, no solo se presenta en individuos mal nutridos, sino también en aque-

llos con un peso corporal adecuado o alto. Los estudios de programación fetal de diferentes patologías y los mecanismos involucrados han avanzado debido al desarrollo de modelos animales en los cuales se utilizan restricción o sobre administración de nutrientes específicos en roedores u ovejas.

Estudios experimentales han demostrado que animales con bajo peso al nacer están expuestos en la vida prenatal a condiciones de estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial y esto puede estar involucrado en el desarrollo de tono vasodilatador inadecuado y aterosclerosis en la adultez. Las especies reactivas del oxígeno (ROS) provenientes de las mitocondrias pueden actuar en condiciones fisiológicas, pero también pueden generar daños en lípidos, proteínas y DNA mitocondrial. Elevados niveles de ROS mitocondrial también están asociados con disfunción endotelial y, proliferación y apoptosis de las células musculares lisas vasculares.

Muchas situaciones adversas en el feto están asociadas con el estrés oxidativo o son pro-oxidantes. Datos experimentales sostienen la hipótesis de que el estrés oxidativo podría ser el disparador inicial en el desarrollo de la programación de enfermedades cardiovasculares. Entender mejor este mecanismo es necesario para desarrollar tratamientos adecuados con el objetivo de prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares en el adulto.

Tradicionalmente, la hipertensión arterial esencial es pensada como el resultado de la carga genética y el ambiente en la vida adulta. La teoría de la programación fetal presume que dicha interacción ya está presente en la vida prenatal y el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes podría estar involucrado.

CARDIOVASCULAR I

Resumen #2. Efectos de la administración de altas dosis de vitamina E sobre la relajación vascular en dos variantes del modelo experimental de síndrome metabólico. Wallinger ML, Linares LM, Viglione PN, Reyes MP, Reyes-Toso CF. Laboratorio de Reactividad Vascular, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Mail: creyesto@fmed.uba.ar

En estudios previos se ha descrito que el consumo crónico de fructosa en las ratas produce deterioro de la relajación acetilcolina-(ACh)- dependiente. Este efecto se observa en ambas variantes del modelo, ya sea cuando la fructosa se suministra en la bebida al 10% o en la dieta al 60%; y estaría relacionado con el desarrollo de disfunción endotelial secundaria al aumento del estrés oxidativo. Se propuso evaluar los efectos de la administración de un antioxidante, la vitamina E (vE) en altas dosis, sobre la relajación del músculo liso vascular en ambas situaciones. Se estudiaron ratas Wistar macho (n=6/grupo), que se dividieron en los siguientes grupos: control (C), control con VE (CvE), fructosa en bebida al 10% (F10), fructosa en dieta (F60), F10 con VE (FvE10) y F60 con VE (FvE60). Las dietas se elaboraron según la AIN93, y en los grupos F60 y FvE60, se reemplazó parcialmente la fuente de hidratos de carbono por F60. La VE se suplementó en la dieta (50 mg/día). Los animales se sacrificaron a las 15 semanas y se les extrajo la aorta torácica, se seccionó en anillos (de 3 mm de longitud) y a continuación se evaluó la reactividad vascular "in vitro" cuando se los incubó en una solución de Krebs estándar (Ke) o con glucosa (G) o manitol (M) 44mmol/l (a los efectos de considerar el efecto de la hiperosmolaridad sobre el vaso). Se incubaron, además, algunos anillos de los diferentes grupos con un inhibidor de la óxido nítrico sintasa (ONS), la L-metil-arginina (L-NAME) y con un dador de óxido nítrico (ON), el nitroprusiato de sodio (NPS). Análisis estadístico: ANOVA, y post test de Bonferroni. Los anillos de los C (con y sin vE) que recibieron G ó M no presentaron variaciones significativas durante la relajación ACh-dependiente ($p > 0.05$). Por otro lado, los de las ratas con F10 ó F60 incubados en Ke disminuyeron la relajación cuando se los comparó con los C ($p < 0,01$ y $p < 0,001$). Dicho efecto fue mayor en el medio con G en el grupo F60 ($p < 0,001$ F vs FG), pero no en el de F10. Los anillos (F10 y F60) incubados con M no mostraron diferencias con los de G ($p > 0.05$). En el grupo F10 la vE en la dieta restauró la relajación cuando se colocaron en Ke (FvE10 vs C y CvE $p > 0.05$), y la mejoró con G ($p < 0,01$ vs F10). La incubación con L-NAME y NPS no mostró diferencias entre los diferentes grupos. Si bien en el grupo F60 la VE restauró la relajación vascular de anillos colocados en Ke (FvE60 y FGvE60 vs C ($p > 0.05$)), en presencia de G los anillos incubados con NPS presentaron menor relajación que los C. La administración de vE no evitó dicho efecto ($p < 0,01$). Con L-NAME no existieron diferencias significativas. Se concluye que si bien la reactividad vascular con F10 y F60 se encuentra alterada en ambos grupos, este efecto es más marcado en el que recibió F60 y se incubó en presencia de G en el medio (que aumenta la producción de especies reactivas del O_2). Este hecho probablemente sería secundario a una disminución en la disponibilidad de ON en la biofase.

Resumen #4. El silenciamiento del receptor de mineralocorticoides (MR) del miocardio cancela la segunda fase de fuerza (SFF) post-estiramiento. Díaz RG, Villa-Abrille MC, Ennis IL, Morgan PE, Cingolani HE, Pérez NG. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas de La Plata (UNLP), calle 60 y 120, 1900 La Plata, Argentina. gperez@med.unlp.edu.ar

El estiramiento del miocardio provoca un aumento rápido de fuerza contráctil seguido por una fase lenta o SFF que se debe a un aumento del Ca^{2+} intracelular. Aunque la causa del aumento de Ca^{2+} se discute, nosotros hemos propuesto que un mecanismo autocrino/paracrino de activación del intercambiador Na^+/H^+ miocárdico (NHE1) por quinasas

redox-sensibles sería clave. Además, usando herramientas farmacológicas, hemos propuesto que la activación del MR sería parte de la cadena de eventos disparada por el estiramiento y que conduce a la SFF. Sin embargo, la especificidad de los inhibidores farmacológicos del MR spironolactona y eplerenona ha sido cuestionada. Más aún, un trabajo reciente en músculo liso ha alertado que estos compuestos pueden afectar rutas de señalización que no dependen de la activación del MR. El objetivo de este trabajo fue testear específicamente el rol del MR en la SFF. Para ello diseñamos un RNA de interferencia capaz de silenciar específicamente al MR y lo incorporamos a un vector lentiviral (l-shMR), el que fue luego inyectado en la pared ventricular izquierda de ratas Wistar. Otro grupo de ratas inyectadas con un vector que expresaba una secuencia no-silenciadora (scramble, "Scr") del MR sirvió de control. Luego de 1 mes se midió la expresión del MR en ventrículo izquierdo y se evaluó en músculos papilares aislados la SFF, así como los cambios post-estiramiento del pHi (por activación del NHE1 en medio libre de bicarbonato) y de la fosforilación de quinasas redox-sensibles (ERK1/2). Los corazones con l-shMR mostraron una reducción significativa de la expresión proteica del MR ($100 \pm 5.9\%$ n=8, Scr vs. $57 \pm 5.8\%$ n=9, l-shMR, $P < 0.05$) y cancelación tanto de la SFF (en % del aumento rápido inicial: 125.9 ± 1.8 n=8, Scr, vs. 103.9 ± 1.3 n=8, l-shMR, $P < 0.05$) como del aumento del pHi disparado por el estiramiento (cambio de pHi: 0.156 ± 0.025 n=7, Scr, vs. 0.009 ± 0.015 n=10, l-shMR, $P < 0.05$). Además, el estiramiento produjo un aumento de la fosforilación de ERK1/2 que fue significativamente reducido por el l-shMR (en % del control no estirado: 149.6 ± 9.9 n=6, Scr vs. 121.2 ± 5.6 n=7, l-shMR, $P < 0.05$). Los resultados obtenidos proveen evidencia suficiente para proponer que la activación del MR es crucial en el mecanismo autocrino/paracrino disparado por el estiramiento que conduce a la activación del NHE1 y al consecuente desarrollo de la SFF.

Resumen #7. Efectos diferenciales de los estereo-isómeros de la arginina en el control de la presión arterial y la frecuencia cardíaca. Guridi J, Borgatello C, Scremin Ou. Facultad de Medicina, UNR, Rosario, Argentina jorgegur47@yahoo.com.ar

La administración de L-Nitroarginina metil ester (L-NAME), inhibidor competitivo de la óxido nítrico sintasa (NOS) induce un incremento de la presión arterial, apoyando la hipótesis de que el óxido nítrico (NO) liberado a partir de la L-Arginina (LA) endógena en reacción catalizada por la NOS, contribuye a mantener la presión arterial. Con la intención de determinar si los efectos de la LA exógena pueden explicarse por la liberación de NO, infundimos LA intravenosa y D-Arginina (DA) la cual no es sustrato de la NOS, a 1.2 mmoles/Kg/min durante 3 minutos en ratas hembras adultas Sprague Dawley. Se midieron la presión arterial y la frecuencia cardíaca y se estimaron ambas mediante software en intervalos de 1 minuto antes y durante la infusión. LA y DA fueron perfundidas en animales separados antes y después de la administración endovenosa en pulsos de 20mg/kg de L-NAME. LA indujo una disminución de la presión arterial de 103.1 (4.1) mmHg a 73.6 (4.1) mmHg ($P < 0.001$) en el final de la infusión. DA induce un efecto similar desde 89.6 (2.7) mmHg a 62.8 (2.7) mmHg ($P < 0.001$). Para LA los cambios fueron lentos y graduales en el tiempo de la infusión, retornando a los niveles pre infusión después de varios minutos. DA induce una rápida disminución de la presión arterial con una veloz recuperación. DA induce taquicardia, de 303 (2.3) lat/min a 323 (2.3) lat/min ($P < 0.001$) pero la LA no (de 315.7 (5.0) lat/min, baja a 313.2 (5.0) lat/min). La administración de L-NAME induce un incremento de la presión arterial hasta 126 (5.6) mmHg ($P < 0.001$) en experimentos con LA, y hasta 139.6 (3.2) mmHg ($P < 0.001$) con DA. Infundida post L-NAME, LA disminuye la presión arterial hasta 76 (5) % de los niveles pre infusión ($P < 0.01$) mientras que DA no produce baja en gran porcentaje. En resumen, la infusión de LA y DA disminuyen la presión arterial, pero sólo LA puede hacerlo en animales en presencia de hipertensión inducida por L-NAME. La hipotensión que produce la DA en ausencia de L-NAME puede estar mediada por procesos que no involucren la producción de NO.

Resumen #12. Efectos vasculares de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en ratas espontáneamente hipertensas menopáusicas. Pineda G, Zilberman J, Elesgaray R, Costa A, Arranz C. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. gonzalopineda08191@yahoo.com

Antecedentes. El riesgo de enfermedad cardiovascular en la mujer se incrementa después de la menopausia (MNP), situación que en la actualidad no puede ser solo atribuida a los cambios hormonales con el envejecimiento y el hipoestrogenismo se activan los mecanismos vasoconstrictores generando disfunción endotelial y una sobreproducción de hormonas ahorradoras de sodio y vasoconstrictoras, con aumento de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina I, angiotensina II, el número y la actividad de los receptores AT1. La activación de este receptor induce vasoconstricción y aumenta la concentración de radicales libres a nivel vascular aumentando el estrés oxidativo y lesión vascular. Todos estos cambios favorecen el incremento de presión arterial. El efecto protector vascular de los estrógenos es atribuido a diferentes mecanismos, entre ellos el control de componentes del Sistema Renina Angiotensina (SRA), la disminución del estrés oxidativo y el incremento de la actividad del sistema del óxido nítrico (NO). **Objetivos.** Evaluar los efectos del enalapril, un inhibidor de la enzima de conversión (IECA), sobre las alteraciones vasculares y la actividad de la NO sintasa (NOS) en ratas menopáusicas espontáneamente hipertensas (SHR). **Modelo experimental y métodos.** Ratas hembras SHR de 14 meses fueron divididas en dos grupos: uno tratado con enalapril por 30 días (15mg/kg/día) en el agua de bebida y un control con agua ad libitum. Se midieron: presión arterial sistólica (PAS) (método indirecto, tail-cuff), y en aorta torácica, actividad de la NOS (^{14}C -arginina) y espesor de la media en cortes teñidos con hematoxilina eosina. Se midió en arterias renales el área de colágeno perivascular en cortes de riñones teñidos con Sirius Red (área de colágeno/radio de luz). **Resultados.** El tratamiento con enalapril disminuyó la PAS, incrementó la actividad NOS en aorta, disminuyó el área de colágeno perivascular en las arterias renales y el espesor de la media en aorta torácica. Estadística: test t- Student.

	Control N=6	Post-Tratamiento N=6	P
Colágeno perivascular en arterias renales	8,65±1,18	4,8±0,227	<0,05
Espesor de la media en aorta(μm)	157,0±0,18	144,2 ±2,2	<0,004
Actividad NOS Aorta (pmol ^{14}C -citrulina/g tej.min)	362,4±9,2	412,3±4,9	<0,05
PAS (mm Hg)	174±8	152±9	<0,01

Conclusiones. La inhibición del SRA en ratas menopáusicas espontáneamente hipertensas aumenta la actividad del sistema del NO en la aorta y esto podría relacionarse con los efectos beneficiosos observados en la estructura de la aorta. Por otra parte, la disminución de la fibrosis perivascular de las arterias renales podría reflejarse en un mejoramiento de la función vascular renal. Las hormonas sexuales no se modificaron con el tratamiento con el inhibidor de la enzima convertidora de la Ang I.

Resumen #14. Efectos de la hipoxia-hipobárica de corta duración sobre el comportamiento mecánico y energético de corazones de rata adulta. Bonazzola P, Lapidula P, Costa, LE. Instituto de Investigaciones Cardiológicas, Fac. Medicina, UBA-CONICET. bonazzolap@yahoo.com.ar

La exposición a hipoxia hipobárica (HH) desencadena mecanismos adaptativos dependientes de su duración. La adaptación a la HH de lar-

ga duración (crónica) se caracteriza por incremento de la recuperación contráctil (RC) durante la reoxigenación (Rox) de corazones sometidos a hipoxia (Hpx) aguda (J Appl Physiol, 105: 951-957; 2008). En este trabajo se estudiaron mecánico-energéticamente los efectos de la HH de corta duración (48 h) sobre corazones de rata adulta sujetos a 60 min de Hpx (95%N₂+5%CO₂, 1.35 mM Ca²⁺) seguido de 60 min de Rox (95%O₂+5%CO₂, 1.35 mM Ca²⁺). Se midió simultáneamente la presión intraventricular izquierda (LVP), la presión diastólica final (LVDP) y el flujo de calor total (Ht) de corazones perfundidos con Krebs-Ringer-Bicarbonato, eléctricamente estimulados a 2 Hz en un calorímetro de flujo a 30°C. Previo a la Hpx, la LVP fue similar tanto en los corazones sometidos a HH (n = 6) como en los controles (C, n = 6), mientras Ht tendió a ser mayor en los primeros (12.2 ± 1.1 vs 10.0 ± 0.4 mW/g). La Hpx indujo caída de LVP al 16.3 ± 3.2 % y de Ht al 15.4 ± 3.2% en C. En los corazones sometidos a HH no se modificó la caída de LVP (16.2 ± 2.5 %) durante la Hpx mientras se atenuó la caída de Ht al 35.9 ± 6.5 % de su valor pre-Hpx. La Rox incrementó la LVP en ambos grupos (60.9 ± 4.9 vs 61.6 ± 7.3 %, para C y HH, respectivamente, NS) y Ht (8.6 ± 0.5 vs 10.9 ± 0.7 mW/g, para C y HH, respectivamente, p<0.05) al final de la Rox. En los corazones sometidos a HH la economía muscular (Eco = LVP/Ht) empeoró marcadamente (p<0.05) durante la Hpx y tendió a disminuir en Rox respecto al grupo C. **Conclusión:** La HH de corta duración no modifica la capacidad de RC post-Hpx aguda pero induce cambios metabólicos tempranos en el miocardio que se traducen en modificaciones de la economía contráctil.

PIP 1688/09, PIP00213/11.

Resumen #15. Mecanismos involucrados en la relajación del músculo liso vascular inducida por el péptido natriurético tipo C en ratas espontáneamente hipertensas. Suarez di Salvo D, Caniffi C, Sueiro L, Wenk G, Muñoz González F, Radionovas V, Reyes A, Arranz C, Costa MA. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, IQUIMEFA, CONICET – UBA. ccaniffi@ffy.uba.ar

En estudios previos mostramos que el péptido natriurético tipo C (CNP) induce un aumento de la actividad de la isoforma endotelial de la óxido nítrico (NO) sintasa (NOS) vascular en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). **Objetivo:** estudiar los mecanismos involucrados en el efecto vasodilatador del CNP, y su interacción con el sistema del NO, en SHR. **Materiales y métodos:** ratas Wistar (W) y SHR macho de 16 semanas de edad fueron sacrificadas por decapitación, se extrajo la arteria aorta torácica y se obtuvieron anillos de 3-5 mm, con y sin endotelio (SE) que se suspendieron en solución Krebs (95% de O₂, 5% de CO₂), 37±1°C, pH=7,4 y equilibraron 60 minutos a una tensión basal óptima de 1 g. La integridad del endotelio fue verificada con acetilcolina (10-7-10-5M) y se midió la tensión isométrica (g) en presencia de concentraciones crecientes de CNP (10-12-10-6M) en anillos precontraídos con fenilefrina (10-7-10-5M), con o sin previa incubación con L-NAME (inhibidor de la NOS, 10-5 M), tetraetilamonio (TEA, bloqueante no selectivo de canales de K⁺, 1 mM) o Cl2Ba (bloqueante de canales de K⁺ de rectificación interna, Kir, 30 μM) durante 30 minutos. **Análisis estadístico** ANOVA dos factores, test posterior de Bonferroni y t-Student para comparación entre 2 grupos. Los resultados se expresan como media ± ESM, n=6 ratas/grupo. **Resultados:** La respuesta vasodilatadora máxima del CNP (Rmáx) es similar en W y SHR y el bloqueo de la NOS disminuye dicha respuesta en ambos grupos (W: CNP=82.20±4.03, L-NAME+CNP=59.81±5.83*; SHR: CNP=81.60±4.16, L-NAME+CNP=50.58±6.68#; *p<0.01vs W(CNP); #p<0.01vs SHR(CNP)). En cuanto a la potencia vasodilatadora, (pCE50, logaritmo negativo de la concentración molar de CNP que produce el 50% de Rmáx), el CNP posee menor potencia en SHR respecto de W y tanto el bloqueo de la NOS como el denudado de la arteria disminuyen pCE50 en ambos grupos (W: CNP=8.01±0.17, L-NAME+CNP=6.08±0.03*, SE+CNP=6.18±0.06*; SHR: CNP=7.06±0.10*, L-NAME+CNP=5.87±0.22#,

SE+CNP=5.97±0.14[^]; *p<0.01 vs W(CNP); #p<0.01 vs SHR(CNP)). El bloqueo no selectivo de los canales de K⁺ en arterias SE revierte el efecto vasodilatador del CNP en ambos grupos (W: SE+CNP=67.26±9.46, SE+TEA+CNP=15.79±7.75[∠]; SHR: SE+CNP=57.74±5.10, SE+TEA+CNP=7.57±4.00[◆]; ∠p<0.01 vs W(SE+CNP); ◆p<0.01 vs SHR(SE+CNP)); mientras que el bloqueo de los canales Kir disminuye significativamente la respuesta vasodilatadora sólo en SHR (W: SE+CNP=67.26±9.46, SE+Cl2Ba+CNP=45.82±8.37; SHR: SE+CNP=57.74±5.10, SE+Cl2Ba+CNP=26.98±1.51[◆]; ◆p<0.01 vs SHR(SE+CNP)). Conclusión: Los efectos del CNP sobre la vasculatura serían endotelio dependientes en ambos grupos de animales, dado que la potencia vasodilatadora del péptido disminuye al denudar la arteria y/o bloquear el sistema del NO. La relajación del músculo liso vascular inducida por el CNP también involucraría la apertura de canales de K⁺ por un mecanismo independiente del NO. En las ratas SHR, en dicho mecanismo participarían los canales Kir, no así en Wistar.

Resumen #21: Producción miocárdica de especies reactivas del oxígeno de origen mitocondrial en respuesta a aldosterona: vías de señalización intracelular involucradas. Nolly MB; Caldiz CI; Yeves AM; Villa-Abrille MC; Morgan PE; Chiappe GE; Cingolani HE; Ennis IL. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET. La Plata, Argentina. iennis@med.unlp.edu.ar

El aumento del estrés oxidativo es característico de los pacientes con insuficiencia cardíaca. En los últimos años se evidenció un efecto beneficioso del tratamiento con antagonistas farmacológicos del receptor de mineralocorticoides (MR) en estos pacientes, disminuyendo significativamente su morbi-mortalidad. El mecanismo intracelular involucrado en este efecto no ha sido completamente dilucidado; sin embargo es conocido que la aldosterona es capaz de estimular la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) en el miocardio. Estudiamos el efecto de la aldosterona sobre la producción de EROs en corazones de rata y las rutas intracelulares involucradas. En cortes de tejido miocárdico utilizando el método de la lucigenina se detectó un aumento en la producción de superóxido del 65±9 % respecto al control en respuesta a la aldosterona (10 nmol/L). Este efecto se previno en presencia de los antagonistas del MR eplerenona y espironolactona (7±7.8 and 3±5.3 %, respectivamente). Resultados similares se obtuvieron al silenciar la expresión del MR mediante la inyección intramiocárdica de un lentivirus codificando un siRNA específico contra este receptor. El efecto de la aldosterona se mimetizó usando un abridor de los canales mitocondriales de potasio dependientes de ATP (mKATP), diazoxide y se abolió bloqueando a los mismos con 5-HD o glibenclámda, sugiriendo el origen mitocondrial del superóxido. En el mismo sentido, tanto el inhibidor de la cadena respiratoria, rotenona, como el del poro de transición mitocondrial, ciclosporina, cancelaron la producción de superóxido inducida por aldosterona. Además este efecto resultó dependiente de NADPH-oxidasa; de la activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y de la quinasa PI3-K ya que fue inhibido por apocynina, AG1478 y wortmannina respectivamente. La administración de EGF exógeno (0.1 µg/mL) incrementó la producción de superóxido de forma similar a aldosterona aunque en este caso los antagonistas del MR no tuvieron efecto, sugiriendo que la transactivación del EGFR ocurre luego de la activación del MR. A través de este mecanismo de transactivación la aldosterona aumentó la fosforilación de Akt. Los inhibidores de los mKATP, de la cadena respiratoria, o del MPTP no tuvieron efecto sobre la fosforilación de Akt, confirmando que ésta ocurre un escalón por encima de la mitocondria. A fin de corroborar que la aldosterona ejerce su efecto sobre los propios cardiomiocitos, se determinó por fluorescencia (DCFDA) la producción de EROs en respuesta a la hormona en miocitos ventriculares aislados de rata. La aldosterona indujo un aumento del 223±52 %,

efecto que se canceló en presencia de 5-HD y del secuestrador de EROs MPG (-22±18 y 16±44 %, respectivamente). El conjunto de estos resultados sugiere que la producción miocárdica de EROs en respuesta a aldosterona requiere la activación del MR y la transactivación del EGFR; y es de origen mitocondrial aunque dependiente de NADPH oxidasa.

Resumen #23: Las isoformas del cotransportador sodio/bicarbonato cardíaco en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y su posible implicancia en la hipertrofia cardíaca. De Giusti VC, Orłowski A, Ciancio MC, De Martino M, Aiello EA. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET. La Plata, Argentina. vdegiusti@med.unlp.edu.ar

En el corazón existen 2 isoformas del cotransportador Na⁺/HCO₃⁻ (NBC), una electroneutra (1Na⁺/1HCO₃⁻; NBC3) y otra electrogénica (1Na⁺/2HCO₃⁻; NBC1). Ambas regulan el pH intracelular (pHi) y el Na⁺i. Adicionalmente el NBC1 genera una corriente aniónica repolarizante que modula la duración del potencial de acción cardíaco (DPAC). Hemos demostrado recientemente que la Angiotensina II (Ang II) activa al NBC3 e inhibe al NBC1. En el presente trabajo se estudió la actividad y la expresión del NBC1 y NBC3 en ratas Wistar, SHR y SHR tratadas durante un mes con losartan (Los, 40mg/kg/día). * indica p<0.05 vs. Wistar. La actividad del NBC1 se midió mediante la alcalinización inducida por una despolarización por alto potasio. La velocidad inicial (Vi, u de pH/min) de la alcalinización fue menor en las ratas SHR que en las Wistar, mientras que se normalizó tras el tratamiento con Los (Wistar: 0.081±0.009, n=22; SHR: 0.054±0.007*, n=23; Los: 0.079±0.01; n=24). La actividad total del NBC (NBC1+NBC3) se estudió mediante pulsos de amonio para inducir acidosis intracelular. Se calculó el flujo de H⁺ a pHi 6.8, en presencia y ausencia de anticuerpos inhibitorios (a-L3) contra el NBC1. La inhibición del NBC1 en las ratas Wistar produjo una disminución del JH del 50%, mientras que sólo se redujo un 14% en las ratas SHR, efecto que fue revertido con Los (43%). Estos resultados indican una disminución de la actividad del NBC1 y un aumento de la actividad del NBC3 en los corazones hipertrofiados. Se estudió mediante W-B la expresión de ambas isoformas en lisados de corazones. Se halló un aumento significativo de la expresión del NBC3 en las ratas SHR con respecto a las Wistar, que se normalizó con el tratamiento con Los (SHR: 172±13*; n=5; Wistar: 100.3±8; n=11; Los: 74±4; n=4), de modo consistente con los datos funcionales. Sorpresivamente, la expresión del NBC1 también se encontró aumentada en las ratas SHR y disminuyó tras el tratamiento con Los (SHR: 145±8*; n=10; Wistar: 98.4±3.6; n=10; Los: 116±9; n=6). Mediante la biotilización de proteínas de superficie celular se demostró un significativo deterioro en el tráfico del NBC1 hacia la membrana celular, explicando su disfunción (porcentaje de internalización: SHR: 74±8%; n=4, Wistar: 45±3%; n=3; Los: 51±1%; n=4), que fue revertido mediante el tratamiento con Los. Dada la sensibilidad de las ratas SHR al Los, se podría sugerir que la Ang II es la responsable del reordenamiento en la expresión de las isoformas del NBC. Nuestros resultados podrían servir como base para explicar, al menos en parte, el aumento en la DPAC y la sobrecarga de Na⁺ características de la hipertrofia cardíaca.

Resumen #24: Rol predominante de la P-GSK-3β citosólica en la cardioprotección mediada por el pre y postcondicionamiento isquémicos en SHR. González Arbeláez LF, Pérez Núñez IA, Fantinelli JC, Mosca SM. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. 60 y 120 La Plata (Bs As). luisafgarbelaez@hotmail.com

Estudios previos en animales normotensos muestran que la acción cardioprotectora del pre (PRE) y postcondicionamiento isquémicos (POS) son mediadas por la fosforilación en Ser 9 de la enzima glucógeno sintasa cinasa (P-GSK-3β). Nuestro objetivo fue determinar si P-GSK-3β así como su ubicación (citosólica y/ló mitocondrial) es responsable

de los efectos observados por la aplicación del PRE y POS en ratas hipertensas espontáneas (SHR). Para ello corazones aislados de SHR de 5 meses de edad y perfundidos por el sistema de Langendorff fueron asignados a los siguientes grupos: 1) Control isquémico (CI): 45 min de isquemia global (IG) y 1 hora de reperfusión (R); 2) PRE: se aplicó un ciclo de 5 min de IG y 10 min de R previo a la IG de 45 min; 3) POS: se aplicaron 3 ciclos de 30 seg de IG y 30 seg de R al inicio de la R; 4) y 5) Se administró durante 10 min previos a la IG ó 3 min al inicio de R un inhibidor no selectivo (CLipre y CLipos) ó selectivo de GSK-3β [indirubina-3'-monoxime,5-yodo, IMIpre e IMIpos]. Al final de R se determinó el tamaño del infarto por la tinción con sales de tetrazolio, el contenido de P-GSK-3β en las fracciones citosólica y mitocondrial del tejido cardíaco por western blot y la interacción física P-GSK-3β/VDAC (proteína mitocondrial) por coimmunoprecipitación. El tamaño del infarto fue de 51 ± 4 % en CI y disminuyó significativamente con todas las intervenciones (PRE: 34 ± 1%; POS: 36 ± 4%; CLipre: 36 ± 2%; CLipost: 35 ± 4%; IMIpre: 33 ± 1%; IMIpos: 36 ± 2%). La expresión de P-GSK-3β citosólica disminuyó en CI (35 ± 1%) y aumentó significativamente con respecto a CI en todas las intervenciones (PI: 85 ± 1%; PCI: 83 ± 3%; CLipre: 81 ± 2%; CLipost: 84 ± 3%; IMI pre: 81 ± 1%; IMIpost: 82 ± 1%) mientras que la mitocondrial experimentó cambios opuestos, aumentando en CI (165 ± 3%) y disminuyendo frente a las intervenciones (PI: 48 ± 1%; PCI: 44 ± 1%; CLipre: 73 ± 4%; CLipost: 71 ± 3%; IMI pre: 73 ± 1%; IMIpost: 73 ± 3%). El nivel de interacción física P-GSK-3β citosólica/VDAC disminuyó en CI y aumentó con respecto a CI en todas las intervenciones. Estos resultados muestran que, en las SHR, la P-GSK-3β citosólica y su interacción física con VDAC son responsables de la disminución del tamaño del infarto producido por el PRE y POS, efecto probablemente asociado a una disminución de la permeabilidad mitocondrial.

Resumen #30. Efecto de los cambios redox del receptor de rianodina cardíaco (RyR2) sobre la generación de arritmias de reperfusión. Said M, Becerra R, Herrero A, Mundiña-Weilenmann C, Mattiazzi A, Vittone L. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CCT-La Plata CONICET, UNLP, Argentina. msaid@aetos.med.unlp.edu.ar

Numerosas evidencias clínicas y experimentales ponen de manifiesto la acción deletérea que tienen las arritmias cardíacas que aparecen durante la reperfusión (R) luego de una isquemia (I). En trabajos previos demostramos que en la R temprana, momento en el que aparece el mayor número de arritmias, se activa la proteína quinasa dependiente de Ca²⁺ y calmodulina (CaMKII) y aumenta la fosforilación del residuo Ser2815 del canal liberador de Ca²⁺ o receptor de rianodina (RyR2) del retículo sarcoplasmático cardíaco (RS) (Said y col. JMCC 51, 2011). Se ha demostrado que la fosforilación del RyR2 en este residuo promueve la pérdida de Ca²⁺ desde el RS en diástole y que esta pérdida es arritmogénica. El RyR2 además de ser fosforilado es sensible a cambios redox del entorno, y como se ha descrito que existe un aumento de la generación de especies reactivas del O₂ y del N₂ durante R, el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar si en R ocurren modificaciones redox del RyR2 y en ese caso, si están asociadas a la aparición de arritmias. Se realizaron experimentos en corazones de rata perfundidos (técnica de Langendorff), que fueron sometidos a isquemia global, seguida de reperfusión (20/3min) a 37°C. La medición de los potenciales de acción monofásicos epicárdicos y de la presión desarrollada por el ventrículo izquierdo permitió cuantificar la aparición de latidos prematuros (LP) durante los 3 primeros minutos de R frente a las distintas intervenciones. Los experimentos se realizaron en presencia y ausencia de inhibidores de la NADPH oxidasa (Apocinina 100microM, APO), de la óxido nítrico sintasa (L-NAME 10microM) y de la CaMKII (KN-93 2,5microM). A distintos tiempos durante el protocolo, los corazones fueron congelados y se realizó la inmunodetección de los cambios redox y de fosforila-

ción del RyR2. Los resultados muestran un aumento significativo de la fosforilación del RyR2 en el sitio Ser2815 a R1min, que pudo ser prevenido por el inhibidor específico de la quinasa, KN-93 (228.5±40.7% vs 97.2±11.1% n=5). KN-93 también disminuyó el número de LP de 42 ± 4 en R3min a 13±3 R3min+KN-93. La S-nitrosilación del RyR2 aumentó de 1±0.14 U.A. (Preisquemia) a 3.34±0.72 (R1min, n=7) y la S-glutatio-nilación de 0.9±0.1 (Preisquemia) a 2.1±0.4 U.A R1min (n=10), (p<0.05 en ambos casos). El tratamiento de los corazones con APO disminuyó los niveles de S-glutatio-nilación (de 2.1±0.4 a 0.9±0.2 p<0.05) e indujo un aumento del número de LP hasta 59±3 en R1min+APO (p<0.05), en cambio el tratamiento con L-NAME no modificó la aparición de LP. Los resultados sugieren que el aumento de la S-glutatio-nilación del RyR2 al inicio de la R, contrarresta el efecto arritmogénico inducido por la fosforilación del RyR2 en Ser2815. Quedaría por establecer si la S-glutatio-nilación funciona como un mecanismo protector limitando la pérdida de espontánea de Ca²⁺ desde el RyR2.

Resumen #31. Caveolinas y óxido nítrico sintasa ventricular en ratas hipertiroideas. Martinez C, Saratti L, Tavella B, Duarte J, Balaszczuk AM, Fellet A. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, IQUIMEFA-CONICET. afe-llet@ffybu.uba.ar

En el presente trabajo se evaluó los niveles proteicos de caveolinas 1 y 3 (cav 1 y 3) y de la óxido nítrico sintasa (NOS) en el ventrículo izquierdo (VI) de ratas Machos y hembra hipertiroideas (Hiper) de 60 días de edad. **Métodos:** A partir del 3er día de edad, ratas machos y hembras de la cepa Sprague-Dawley fueron inyectadas cada 2 días por vía subcutánea con solución salina 0.9 % (0.1 ml/100 g de peso corporal) Grupo Control (Control Macho y Control Hembra) o con solución de T3 (20 µg/ 100 g de peso corporal) Grupo Hipertiroideo (Hiper Macho e Hiper Hembra) A los 60 días de edad, los animales fueron sacrificados. Se determinaron distintas variables biológicas, se les extrajo el corazón y se aislaron el ventrículo izquierdo (VI) para determinar los niveles proteicos de la NO sintasa neuronal, endotelial e inducible (nNOS, eNOS e iNOS), Caveolinas (cav-1 y Cav-3) [técnica de WB] y la actividad de NOS [técnica de [14C (U)]-L-arginina a [14C (U)]-L-citrulina]. Los datos se expresaron como la media (X) ± error estándar de la media (ESM). Para analizar los datos se utilizó ANOVA seguido de un test de Bonferroni para múltiples variables y la prueba T2-Tamhane. *p<0.05vsC; #p<0.05vs ratas machos. **Resultados:** En la tabla se muestran las variables biológicas evaluadas en todos los grupos.

	Control Macho	Hiper Macho	Control Hembra	Hiper Hembra
TSH (ng/mL)	1,35±0,08	0,42±0,07*	1,36±0,04	0,52±0,06*
T3 (ng/mL)	1,17±0,10	2,30±0,25*	1,20±0,06	2,60±0,20*
T4 (µg/mL)	2,48±0,06	0,82±0,04*	3,40±0,06#	1,14±0,40*
Peso (g)	348,25±6,80	282,13±5,26*	217,89±3,32#	196,11±1,75* #
Masa VI (mg)	789,30±876	812,67±15,57	501,56±12,26#	618,73±9,33*#
Masa VI/Peso (mg/g)	2,28±0,59	2,89±0,07*	2,30±0,05	3,16±0,06*

La actividad de la NOS de las ratas machos controles fue mayor que el de las hembras controles [Control Macho= 57±0,50 , Control Hembra= 55±0,33#] Además en los animales Hipertiroideos se observó un incremento de la actividad de dicha enzima cuando se los comparo con sus respectivos controles[(Control Macho=57±0,50,Hiper Macho=91±3*);(Control Hembra=55±0,33, Hiper Hembra=103±7*)] En las ratas tratadas con T3 se encontró una disminución en los niveles proteicos de caveolina-3 en comparación con sus respectivos controles [(Control Macho=0,84±0,03, Hiper Macho=0,70±0,02*);(Control Hembra=0,76±0,02,Hiper Hembra=0,65±0,03*)]. El tratamiento con hormonas tiroideas no modificó los niveles proteico de cav-1, nNOS, eNOS e iNOS independientemente del sexo.

Resumen #44. Inhibición de la Cx43 durante el ejercicio físico intenso Tiscornia GC, Moretta RE, Argenziano MA, Amorena CE, Garcia-Gras EA. Centro de Estudios en Salud y Medio Ambiente, Escuela de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de San Martín (CESY-MA-UNSAM). gi_pp@hotmail.com

El entrenamiento está asociado a importantes adaptaciones en el control autonómico del sistema cardiovascular. En particular, el ejercicio crónico incrementa el tono vagal mientras que reduce el tono simpático y aumenta la sensibilidad del miocardio a la estimulación simpática durante el ejercicio. Por este motivo, los individuos entrenados difieren de los sedentarios no sólo en condiciones de reposo sino también en la respuesta aguda frente al ejercicio. Se ha reportado que la estimulación simpática puede afectar la expresión de la Conexina 43 ventricular (Cx43). Durante un infarto de miocardio, el aumento del estímulo simpático es el responsable de la reducción observada de la Cx43. Esta proteína es la principal subunidad de las uniones gap en ventrículo y es responsable del acoplamiento eléctrico entre miocitos, permitiendo así la contracción sincronizada del miocardio. Por este motivo la disminución de la expresión de Cx43 puede causar reducción de la velocidad de conducción y generación de eventos de arritmia. En trabajos previos trabajamos con un modelo murino en balb/c y demostramos que la expresión de la Cx43 varía durante el ejercicio agudo. Trabajamos con ratones entrenados (RE) y no entrenados (RNE) ejercitados a distintos tiempos. El nivel basal de Cx43 fue mayor en RE que en RNE. Pero los RE mostraron una reducción significativa de la Cx43 a los 60 minutos de ejercicio respecto del control sin ejercitar, mientras que en RNE se mantuvo estable. Por último, establecimos el rol del sistema simpático en la regulación de la abundancia de Cx43 con el ejercicio. La reducción de Cx43 observada en RE fue prevenida por el tratamiento con propranolol, bloqueante de los receptores adrenérgicos β_1 y β_2 . En este trabajo analizamos los parámetros de los potenciales de acción ventriculares y ECG transmural para evaluar si la reducción aguda de la Cx43 causada por el ejercicio en RE acarrea implicancias en la propagación de los potenciales de acción. Trabajamos con RNE y RE, ambos grupos en reposo y ejercitados 60 minutos. Inmediatamente los corazones fueron extraídos, se separaron las aurículas y los ventrículos se perfundieron de acuerdo a la preparación de Langendorff a 37°C y se estimularon cada 150 ms con pulsos de 0.3 ms. Tanto en RE como en RNE, el ejercicio indujo un acortamiento significativo de la duración del potencial de acción respecto del control en reposo. Sin embargo, el intervalo QRS, como estimación indirecta de la velocidad de conducción, no mostró diferencias significativas entre los grupos. Estos resultados podrían sugerir, que en individuos sanos entrenados, la reducción de la Cx43 causada por el ejercicio agudo no genera consecuencias en la propagación del impulso cardíaco.

Resumen #53: Injuria cardiaca asociada a la tolerancia a la glucosa alterada: Rol de la Ca2+-Calmodulina quinasa II. Sommesse L(1), Blanco PG(2), Castro C(3), Velez Rueda JO(1), Mattiazzi A(1), Palomeque J (1). (1) Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Cs. Médicas, UNLP, La Plata, Argentina; (2) Servicio de Ecocardiografía, Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP, La Plata, Argentina; (3) Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada, Facultad de Cs Médicas, UNLP, La Plata, Argentina. julip@aetos.med.unlp.edu.ar

La insuficiencia cardiaca (IC) es más frecuente en personas con diabetes tipo 2 (DMT2) que en la población general. La DMT2 es precedida por un estado de tolerancia a la glucosa alterada (TGA), donde las complicaciones de la diabetes aparecen en menor magnitud. Por otro lado, la hiperactividad de la Ca²⁺-Calmodulina quinasa II (CaMKII) ha sido involucrada en la injuria cardiaca a través de la promoción de apoptosis, hipertrofia, alteraciones en el manejo del Ca²⁺ y arritmias. Sin embargo, se desconoce el rol que cumple la CaMKII en la enfermedad cardiaca que presentan las personas con DMT2 o TGA, por lo que nos propusimos estudiar su participación en la injuria cardiaca de un modelo de TGA. Métodos: ratas Wistar

y ratones transgénicos que expresan constitutivamente un inhibidor de la CaMKII cardiaca (AC3I), y los respectivos controles, que no lo expresan (AC3C), se alimentaron con una dieta estándar (Control, C) o con la misma dieta más 10% de fructosa en el agua de bebida (F) por 21 días. Los animales fueron luego sometidos a ecocardiografía y sacrificados. Se midió tolerancia intraperitoneal a la glucosa (TIG), triglicéridos (TG), NEFA e insulina en sangre. Los corazones se destinaron a estudios bioquímicos, medición de especies reactivas del O₂ (ROS) por TBARS y al aislamiento de miocitos para evaluar contractilidad y Ca²⁺i. Resultados: Las ratas F presentaron una curva alterada a la prueba de TIG, mayores niveles de TG, NEFA e insulina y por ecocardiografía, una disminución del porcentaje de acortamiento medioventricular respecto de las C. En las ratas F la actividad de CaMKII aumentó significativamente (P-CaMKII 100.2±24.2% y P-Thr17 de fosfolamban 169.0±51.4%) en asociación con el aumento de P-p38MAPK (61.7±13.9), del índice apoptótico Bax/Bcl2 (273.6±39.7%) y de los ROS (106.7±28.5%), respecto de las C. No se encontraron diferencias significativas en los parámetros contráctiles o del manejo del Ca²⁺i, en los miocitos aislados, pero si una disminución de la reserva inotrópica frente al isoproterenol en las ratas F respecto de las C. Las ratas F presentaron además mayor actividad contráctil espontánea y ondas de Ca²⁺ respecto de las C. Los ratones AC3C-F presentaron ecocardiográficamente un deterioro de la función diastólica (disminución de la relación de ondas E/A) que se previno parcialmente en los AC3I-F. Los ROS se encontraron aumentados en los ratones AC3C-F respecto de sus pares AC3C pero no en los AC3I-F, indicando que la producción de ROS requiere la activación de CaMKII. Conclusiones: Las ratas con TGA presentaron disfunción diastólica y sistólica y una menor reserva contráctil asociada con un aumento de la actividad de CaMKII y de p38MAPK, incremento de ROS, y apoptosis. Además, la TGA predispuso a una mayor actividad contráctil espontánea y producción de ondas de Ca²⁺. Los resultados en ratones con inhibición de CaMKII sugieren que esta quinasa podría estar involucrada en el deterioro cardiaco observado en la TGA.

Resumen #56: Mecánico-energética de corazones de ratas hipertiroideas en un modelo de atontamiento por isquemia-reperfusion. Ragone MI #1, Colareda GA 1, Consolini AE 1, Bonazzola P 2. 1Cátedra de Farmacología, Depto de Cs. Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 2 ININCA Facultad de Medicina. UBA-CONICET. #Becario Post-doctoral CONICET. mariainesragone@hotmail.com.

El hipertiroidismo (HpT) exacerba la estimulación adrenérgica en corazón, por lo que se espera que afecte la respuesta contráctil y energética a la isquemia-reperfusion (I/R). Para evaluarlo, se estudiaron los corazones aislados de ratas convertidas en HpT por inyección subcutánea de 20 µg/kg/día de T3 durante 15 días, en comparación con corazones de ratas eutiroides (Eu). Los corazones se perfundieron con Krebs-2 mM Ca²⁺ según técnica de Langendorff en un calorímetro de flujo a 37°C y 3 Hz de frecuencia. Se evaluó en simultáneo la recuperación post-isquémica (RPI %) de la máxima presión intraventricular (P) y del flujo de calor total (Ht) y los cambios en la presión diastólica (LVEDP, mmHg) antes, durante y después de aplicar una isquemia global de 20 min y reperfusion de 45 min (I/R). Los corazones HpT aumentaron la RPI contráctil (RCPI) hasta 108±12%* respecto de los Eu (70±6%) y redujeron la RPI-Ht (48.3±3.6%* vs 90.4±6.8% de Eu), aumentando la RPI de la economía (Eco= P/Ht) a 9.7±1.7* vs 3.6±0.6 en Eu. Para evaluar si la mayor RCPI se relaciona con una mayor carga del retículo sarcoplásmico (RS), se reperfundieron los corazones HpT y Eu con Krebs+caféina 10 mM-36 mM Na+ y se midió el área bajo la curva de contractura (LVP) y de Ht, las cuales resultaron similares para HpT y Eu. Para evaluar el rol mitocondrial, se bloqueó selectivamente el mNCX con clonazepam (Clzp) 10 µM antes de la I/R, con lo cual en HpT se redujo la RCPI al 13±3.8%* respecto de Eu (98±14%) con aumento de LVEDP (+55±12 mm Hg* vs 0) respecto a Eu (4.3±2.7 mmHg) y similar RPI-Ht. Para evaluar si el mNCX contribuye con Ca²⁺ a la RCPI se pretrató con ouabaína (Ouab) 0.15 µM para impulsar

la extrusión de Ca^{2+} mitocondrial antes de agregar Cl_2p previo a la I/R. El pretratamiento con Ouab+ Cl_2p aumentó la RCPI en HpT al $44\pm 8\%$ respecto de Cl_2p , pero la mantuvo en Eu al $76\pm 9\%$, igualando las RPI de Ht y de la Eco entre HpT y Eu, con mayor aumento de LVEDP en la R de HpT ($+37\pm 10 \text{ mmHg}^*$ vs 0) que en Eu ($8.2\pm 1.2 \text{ mmHg}^*$ vs 0) ($*p<0.05$). Se concluye que: a) el hipertiroidismo mejora la RCPI en este modelo de atontamiento de corazones de rata; b) el efecto cardioprotector no se asociaría a aumento de la carga de Ca^{2+} del RS; c) hay una mayor participación del mNXC en HpT que en Eu contribuyendo a la RCPI y a la relajación diastólica; d) los corazones post-isquémicos hipertiroideos resultaron más sensibles a clonazepam que los eutiroides, pero la sobrecarga de Ca^{2+} y Na^+ inducida por el cardiotónico ouabaina niveló sus respuestas. #Becario Post-doctoral CONICET; Subsidios:UNLP-X-513 y PIP-11-213.

Resumen #58: Papel del intercambiador Na^+/H^+ en la hipertrofia cardíaca fisiológica. Yeves AM, Villa-Abrille MC, Nolly MB, Pinilla OA, Pérez NG, Escudero EM, Ennis IL. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET. La Plata, Argentina. iennis@med.unlp.edu.ar

Ante situaciones de sobrecarga hemodinámica el corazón responde aumentando su masa, condición denominada hipertrofia cardíaca (HC). La HC puede ser fisiológica, inducida por entrenamiento aeróbico intenso o embarazo; o patológica cuando se asocia a enfermedad cardiovascular, por ejemplo hipertensión arterial o post infarto agudo de miocardio. Mientras que la HC fisiológica constituye una respuesta adaptativa del miocardio que preserva o mejora la función contráctil, la HC patológica es uno de los principales predictores de insuficiencia cardíaca y mortalidad cardiovascular. Nuestro objetivo fue profundizar el conocimiento de las diferencias en los mecanismos intracelulares involucrados en una y otra forma de HC, con especial hincapié en el intercambiador Na^+/H^+ cardíaco (NHE-1) que juega un papel crítico en la fisiopatología de la HC patológica y no se conoce su participación en la HC fisiológica. Implementando una rutina de natación (90 minutos/día, 5 veces/semana, 12 semanas) se indujo el desarrollo de HC fisiológica en ratas normotensas [índice peso biventricular/longitud de tibia: 22.04 ± 0.26 vs. $24.27\pm 0.73 \text{ mg/mm}$ e índice de masa ventricular izquierda (ecocardiografía): 1.48 ± 0.05 vs. $1.79\pm 0.02 \text{ mg/g}$; ratas sedentarias (S) y nadadoras (N) respectivamente]. No se evidenciaron diferencias significativas en la función sistólica [% de acortamiento por ecocardiografía: 60.06 ± 0.74 (S) vs. 57.94 ± 0.77 (N)] pero sí una mayor distensibilidad de los músculos papilares de las ratas N ($p<0.05$) que se correlacionó con una disminución significativa del porcentaje de colágeno intersticial [1.73 ± 0.05 (S) vs. 1.42 ± 0.09 (N)]. A nivel molecular el entrenamiento no modificó la expresión del NHE-1 [inmunoblot, 100 ± 8.45 (S) vs. 94.9 ± 6.65 (N)] ni del marcador de HC patológica BNP (qPCR, 100 ± 15 vs. 99 ± 15 %) pero sí la de la vía $\text{PI3-K}/\text{AKT}$ [expresión de PI3-K : 153 ± 18 (N) vs. 100 ± 9.8 (S); y P-AKT : 134 ± 10 (N) vs. 100 ± 5 (S) %]. Los resultados se corroboraron en un modelo in vitro de miocitos ventriculares aislados de rata cultivados (6 hs.) en presencia de IGF-1 (10nM), el principal factor de crecimiento inductor de HC fisiológica. El IGF-1 aumentó el área (111 ± 2.2 vs. 100 ± 2.1 %) y el cociente proteína/DNA (109 ± 1.76 vs. 100 ± 1.49 %) de los cardiomiocitos, efecto que no se canceló en presencia del inhibidor selectivo del NHE-1 HOE642 (área: 110 ± 2.04 %; proteína/DNA: 107 ± 0 %). IGF-1 también indujo un aumento significativo de P-AKT (100 ± 5.9 vs. 122 ± 5.7 ; control e IGF-1, respectivamente). Se exploró el efecto de IGF-1 sobre la actividad del NHE-1 (determinando la velocidad de recuperación del pHi luego de un pulso de amonio por epifluorescencia con BCECF) y no se detectó un efecto significativo de la hormona sobre la actividad del intercambiador (JH+ a pHi 6.8: 2.13 ± 0.23 vs. 1.84 ± 0.16 ; control e IGF-1). Estos resultados sugieren que el NHE-1 no estaría involucrado en el desarrollo de HC fisiológica siendo ésta una diferencia crítica con la HC patológica.

CARDIOVASCULAR II

Resumen #59: Efecto del implante de células mesenquimales adiposas genéticamente modificadas en conejos con enfermedad vascular periférica experimental. Olea FD, Hnatiuk A, De Lorenzi A, Valdivieso L, Locatelli P, Sepúlveda D, Ramírez R, Laguens R, Crottogini A. Departamentos de Fisiología y Patología, Universidad Favaloro; Departamentos de Ecocardiografía y Cardiología Intervencionista, Hospital Universitario, Fundación Favaloro. dolea@favaloro.edu.ar

Las células madre mesenquimales del tejido adiposo (ASCs) han demostrado ser efectivas en la reparación y regeneración tisular de diferentes parénquimas, entre ellos el músculo esquelético, fundamentalmente debido a la liberación de factores angiogénicos. Por otra parte, hemos demostrado que la terapia génica con un plásmido codificante para factor de crecimiento de endotelio vascular (pVEGF165) promueve angio-arteriogénesis y protección contra lesiones musculares isquémicas en conejos con enfermedad vascular periférica (EVP). Por lo tanto, hipotetizamos que en este modelo animal las ASCs modificadas para sobreexpresar VEGF165 tendrían un efecto reparador superior a las ASCs no modificadas. Métodos: Se aislaron, identificaron, cultivaron y transfectaron con pVEGF165 células mesenquimales de grasa abdominal de conejos. Estas células (10 millones) se inyectaron alógenicamente en forma intramuscular en conejos con EVP experimental del miembro posterior izquierdo (Grupo ASC-VEGF, $n=10$). Otros conejos recibieron 10 millones de ASCs sin modificar (Grupo ASC, $n=10$) o PBS (Grupo placebo, $n=10$). Previamente al tratamiento y a 30 días del mismo se midió velocidad sistólica pico (VSP) en ambos miembros posteriores (MM PP) y el cociente entre las presiones sistólicas pico de ambos MM PP (Pizq/Pder) por eco Doppler. El día 30 post-tratamiento se realizó angiografía de MM PP para calcular densidad vascular (DV), se efectuó el sacrificio y se tomaron muestras del aductor, gastrocnemio y cuádriceps de ambos MM PP. Resultados: La VSP sólo aumentó en el grupo ASC-VEGF (pre-trat: $11,1\pm 3,3$, post-trat: $23,4\pm 19 \text{ cm/seg}^2$; $p<0,05$, Media \pm DS, 2-way ANOVA-Bonferroni). La Pizq/Pder sólo aumentó en el grupo ASC (pre-trat: $0,22\pm 0,15$, post-trat: $0,65\pm 0,23 \text{ mm Hg}$; $p<0,01$). En la angiografía, sólo el grupo ASC-VEGF mostró una DV mayor a la del grupo placebo ($5,6\pm 1,1$ vs. $4,5\pm 0,6 \text{ vasos/cm}^2$, $p<0,04$). El porcentaje de muestras musculares patológicas fue menor en los animales tratados (27,8%) que en los placebo (63,6%) (Test exacto de Fisher, $p=0,054$). Si bien el porcentaje de muestras patológicas en ambos grupos tratados no difirió entre sí, la severidad de las lesiones fue inferior en el grupo ASC-VEGF. Conclusión: En conejos con EVP, la inyección local de ASCs modificadas para sobreexpresar VEGF mejoran la hemodinamia y la vascularización del miembro afectado más que las ASCs no modificadas, pero ambas atenúan la severidad del daño muscular isquémico.

Resumen #60: La deficiencia moderada de zinc programa alteraciones en la función cardíaca en la vida adulta. Juriol L¹, Gobetto N¹, Cardelli Alcalde D¹, Elesgaray R¹, Zilberman J^{1,2}, Corrales Barbosa A², Costa MA¹, Arranz C¹, Tomat A¹. ¹Cátedra de Fisiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. IQUIMEFA-UBA-CONICET. ²Instituto Cardiovascular de Buenos Aires.

Previamente demostramos que la deficiencia moderada de zinc durante el crecimiento intrauterino y postnatal es un modelo de programación fetal de hipertensión y enfermedades renales en la adultez. Existen evidencias que sugieren que la restricción de nutrientes durante la vida fetal y post-natal temprana puede alterar el desarrollo del miocardio al modificar los procesos de hiperplasia, apoptosis e hipertrofia celular y programar cambios en la estructura y función cardíaca en la adultez. **Objetivo:** Evaluar si esta deficiencia durante la

vida fetal y el crecimiento induce alteraciones cardíacas en ratas adultas de ambos sexos. Ratas nacidas de madres que recibieron dieta control (C:30 ppm) o baja en zinc (B:8 ppm) durante la preñez, continuaron hasta la adultez (81 días de vida) con dichas dietas. Grupos experimentales: control macho (Cm) y hembra (Ch), bajo zinc macho (Bm) y hembra (Bh). A los 81 días, se evaluó la función ventricular izquierda mediante ecocardiograma, midiendo los siguientes parámetros en diástole (d) y en sístole (s): Tabique interventricular (TIVd, TIVs), diámetro (DIVd, DIVs) y pared libre del ventrículo izquierdo (PLIVd, PLIVs); volumen de fin de diástole (VFD) y sístole (VFS), Fracción de eyección (FE%) y de acortamiento (FA%). Se determinó la presión arterial sistólica (PAS) por método indirecto y el número de células apoptóticas cardíacas mediante técnica de TUNEL. Los resultados se analizaron con test ANOVA de dos vías y test Bonferroni como post-test (* $p < 0,05$ vs Cm; $n=6$ en cada grupo). **Resultados:** Bm presentó la PAS aumentada respecto a su control, no observándose diferencias entre Ch y Bh (Cm:122±2 vs Bm: 141±3*; Ch:120±2 vs Bh:122±5). En cuanto a la función ventricular izquierda, Bm presentó menor TIVd (Cm:2,3±0,1; Bm: 1,9±0,1*), TIVs (Cm: 3,3±0,1; Bm:2,67±0,03*), PLIVd (Cm: 2,7±0,2; Bm: 2,2±0, 1*) y PLIVs (Cm: 3,5±0,3; Bm: 2,7±0,1*) respecto a Cm. Por otro lado, en Bm, se observaron mayores DIVd (Cm: 5,2±0,1; Bm: 6,4± 0,1*), DIVs (Cm: 2,7±0,2; Bm: 4,3±0,3*), VFD (Cm: 0,14±0,01; Bm: 0,26±0,01*) y VFS (Cm: 0,02±0,01; Bm: 0,09±0,02*) respecto a su control, determinando una FE% (Cm: 86±5; Bm: 69±5*) y FA% (Cm: 49±6; Bm: 32±5*) menor. No se observaron diferencias significativas en estos parámetros en las hembras. **Al evaluar el número de células apoptóticas cardíacas, solo en los machos deficientes se observó un aumento respecto a su control (Cm: 5±1; Bm: 43±9*).** **Discusión:** La deficiencia de zinc durante la vida fetal y postnatal induce, en machos, alteraciones de la función ventricular, evidenciada por una distensión del ventrículo izquierdo en diástole y una disminución de la contractilidad en sístole. Estas alteraciones podrían estar relacionadas con la activación de procesos apoptóticos en el ventrículo izquierdo y/o con el aumento de la presión arterial observada en los machos deficientes. La deficiencia de zinc en las hembras no indujo alteraciones cardíacas, sugiriendo una probable protección hormonal en esta etapa de la vida.

Resumen #61: Mecanismos subcelulares involucrados en la apoptosis inducida por marcapaseo rápido en cardiomiocitos de rata adulta. Sepúlveda M, Gonano L, Vila Petroff M. Centro de Investigaciones Cardiovasculares CCT-CONICET. Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. La Plata, Argentina. bijoumase@hotmail.com

La Taquicardia ventricular promueve muerte celular y remodelado cardíaco que conducen a la insuficiencia cardíaca congestiva. La pérdida de miocitos por apoptosis es reconocida como un factor crítico en la progresión hacia la insuficiencia cardíaca y ha sido demostrado que la simulación de taquicardia por marcapaseo rápido (MR) induce la activación de distintas moléculas potencialmente proapoptóticas. Entre ellas CaMKII, p38MAPK y las especies reactivas del oxígeno (ROS). Sin embargo, si estas moléculas median la muerte celular inducida por taquicardia o por MR aún no ha sido determinado. El objetivo de este estudio fue examinar los mecanismos subcelulares que subyacen a la apoptosis inducida por MR. Con este propósito miocitos ventriculares de rata se mantuvieron en reposo o fueron marcapaseados a las frecuencias de 0,5, 5 y 8 Hz durante 1 hr. El MR (5 Hz y 8) disminuyó la viabilidad de los miocitos un 25 ± 3% y 45 ± 6% en comparación con las células mantenidas a 0,5 Hz y aumentó la actividad de Caspasa-3 y la relación de Bax/Bcl-2, indicando apoptosis. La muerte celular y la apoptosis disminuyeron cuando los protocolos de MR se llevaron a cabo ya sea, en presencia del barredor de ROS (MPG) o del inhibidor de la CaMKII (KN93) o del inhibidor p38 MAPK (SB202190). Interesantemente, la Tretacaina, utilizada para reducir

la liberación de Ca⁺⁺ diastólico por el receptor de rianodina (RyR), redujo la muerte celular inducida por MR, mientras que la inhibición de la vía PI3K/AKT con Wortmanina aumentó aún más la mortalidad celular inducida por MR. Concluimos que el MR desencadena una cascada de señalización que involucra ROS, p38MAPK y CaMKII que conduce a la liberación de Ca⁺⁺ diastólico resultando en la apoptosis de los cardiomiocitos. El MR simultáneamente activa una cascada antiapoptótica que involucra AKT. Sin embargo, esta es insuficiente para reprimir completamente la apoptosis.

Resumen #62: Deficiencia moderada de zinc durante la vida fetal y la lactancia en ratas de ambos sexos: alteraciones cardíacas durante el desarrollo. Gobetto N, Veiras L, Juriol L, Elesgaray R, Mendes Garrido F, Costa MA, Tomat A, Arranz C. Cátedra de Fisiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. IQUIME-FA-UBA-CONICET.natygobetto@gmail.com

Numerosos estudios han demostrado una marcada correlación entre desequilibrios nutricionales fetales y la programación de enfermedades cardiovasculares. Previamente demostramos que durante la vida fetal y la lactancia, la deficiencia moderada de zinc conduce al desarrollo de hipertensión arterial y disfunción renal en la adultez. El objetivo de este trabajo fue evaluar parámetros morfológicos y funcionales cardíacos en edades tempranas de ratas macho y hembra sometidas a una deficiencia moderada de zinc durante la vida intrauterina y la lactancia. Ratas Wistar, recibieron durante la preñez y la lactancia: dieta control (C, 30 ppm de zinc, $n=9$) o dieta baja (B, 8 ppm de zinc, $n=9$) en zinc. Las crías permanecieron con sus madres hasta los 6 ó 21 días de edad (d) post nacimiento. Grupos experimentales: machos control (Cm); hembras control (Ch); machos bajos (Bm) y hembras bajas (Bh). Luego del sacrificio, se determinaron: peso corporal (g) y cardíaco (g/100g. pc), diámetro mayor m), $\mu(D)$ y menor (d) de los cardiomiocitos mediante microscopía óptica (actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) cardíaca con L-(U14C)-arginina (pmol Cit/g tej.min) y el número de células apoptóticas cardíacas mediante la técnica de TUNEL. Los datos fueron analizados usando ANOVA de dos variables, seguido del test de Bonferroni. (* $p < 0,05$ vs Cm, # $p < 0,05$ vs Ch). **Resultados:** Bm y Bh presentaron menores pesos corporales que sus controles a los 6 días (Cm:11,4±0,5 vs. Bm:8,5±0,3*; Ch:10,5±0,6 vs. Bh:8,1±0,3#) y 21 días (Cm:39,4±1,3 vs. Bm:33,9±0,7*; Ch:38,4±1,3 vs. Bh:30,1±1,1#). El mismo patrón se observó al evaluar los pesos cardíacos a los 6 días (Cm: 0,73±0,01 vs. Bm: 0,63±0,02*; Ch: 0,75±0,02 vs. Bh: 0,65±0,02#) y a los 21 días (Cm: 0,79±0,09 vs. Bm: 0,57±0,01*; Ch: 0,79±0,08 vs. Bh: 0,56±0,02#). Al evaluar el diámetro de los cardiomiocitos a los 6d, Bm y Bh mostraron un D aumentado (Cm:9,0±0,2 vs. Bm:13,3±0,6*; Ch:8,2±0,4 vs. Bh:15,7±0,8#). A los 21 días sólo Bm mostró d y D aumentados (Cm:14,0±0,3 vs. Bm:18,2±0,4*; Cm:8,6±0,2 vs. Bm:10,7±0,2*, respectivamente). Bh presentó d elevado (Ch:9,4±0,2 vs. Bh:10,1±0,2#) respecto a sus controles. La actividad de la NOS cardíaca fue menor en Bm y Bh tanto a los 6 días (Cm:204,4±5 vs. Bm:149,0±2*; Ch:198,2±3 vs. Bh:144,2±3#) como a los 21 días (Cm:248,5±5 vs. Bm:204,7±5*; Ch:246,8±3 vs. Bh:201,3±3#). Bm y Bh presentaron un elevado número de células apoptóticas a los 6d respecto a sus controles (Cm:21 ± 9 vs. Bm:167 ± 16*; Ch:40 ± 10 vs. Bh:194 ± 19#). La deficiencia de zinc en etapas críticas del desarrollo da por resultado menores pesos corporales y cardíacos, y mayor apoptosis de los miocitos. La remodelación hipertrofica de los mismos constituiría un mecanismo compensatorio que se pone en marcha durante la vida postnatal temprana. Estas alteraciones, junto con la disminución de la actividad de la NOS en el corazón, podrían ser uno de los mecanismos responsables de la programación de alteraciones cardíacas en la adultez.

Resumen #67: Caracterización del receptor de rianodina (RyR2) y su fosforilación por la quinasa dependiente de Ca calmodulina (CaMKII) durante la injuria por isquemia y reperusión cardíaca (I/R). Di Carlo MN., Valverde CA, Said M., Mattiazzi A., Salas M. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CONICET-La Plata, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. salasmarga@gmail.com

Al comienzo de la reperusión, luego de la isquemia cardíaca, ocurre la activación de la Ca²⁺-Calmodulina quinasa II (CaMKII). Nuestro grupo y otros han demostrado que tal activación ejerce un rol deletéreo contribuyendo significativamente a la injuria tisular. Por experimentos previos sabemos que en este efecto participan fosforilaciones del retículo sarcoplasmático (SR) dependientes de CaMKII. Para estudiar si el sitio Ser 2814 del RyR2, -cuya fosforilación determina pérdida de Ca²⁺ por el RS-, estaba involucrado en dicho efecto deletéreo, se realizaron isquemias globales seguidas de reperusión (45min/2hsR) en ratones transgénicos con el sitio del RyR2 fosforilado por CaMKII, mutado a alanina. i.e. no fosforilable (ratones (Ser2814A). Los Ser 2814A presentaron una disminución significativa del área de infarto (Ctrl: 26.74±2.02 % vs. Ser2814A: 12.01±0.9%) y aumento de la recuperación contráctil a los 120min de R (% respecto a preisquemia: Control: 2.45 ±0.66 (n=7) vs Ser2814A: 8.37±2.31 (n=8)). Estos resultados permiten concluir que la fosforilación del RyR2 por CaMKII, está involucrada en el daño por I/R. Decidimos entonces caracterizar en función del tiempo los cambios de fosforilación sufridos por el RyR2 en ratones C57 durante ese protocolo de I/R. Resultados:, comparado con la fosforilación inducida por 30nM de isoproterenol el RyR2 mostró un aumento de la fosforilación a los 5 min de reperusión (I/R: 255±89 vs Iso:100±4.05) que disminuyó a los 120min. Esto coincide con la fosforilación del sitio de fosfolamban, CaMKII dependiente, Treonina 17 que ocurre a tiempos similares. Conclusión: Los resultados en ratones transgénicos y los obtenidos en ratones C57 indican que la fosforilación del RyR2 es un evento determinante del daño inducido por I/R cardíaca. PICT 1795 –PIP 2139

Resumen #68: Drosophila melanogaster como modelo para estudiar enfermedades cardiovasculares humanas. Harnichar E¹, Valverde C², Lacunza E³, Rivera Pomar R⁴, Mattiazzi A², Ferrero P⁴. ¹Centro Regional de Estudios Genómicos - UNLP. ²Centro de Investigaciones Cardiovasculares - Fac de Cs Médicas- UNLP.³CINIBA, Fac de Cs Médicas, UNLP. ⁴Centro Regional de Estudios Genómicos - UNLP y Departamento de Cs Básicas y Experimentales, UNNOBA pferrero@creg.org.ar

Las enfermedades cardiovasculares humanas han sido estudiadas tradicionalmente en mamíferos, mediante ensayos agudos y crónicos, dada su semejanza con la fisiopatología cardiovascular en humanos. Hace poco tiempo grupos de investigadores en los Estados Unidos han desarrollado con éxito en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, experimentos sobre cardiogénesis y cambios de la función cardiovascular asociados al envejecimiento. Así, *Drosophila melanogaster* es utilizada para estudiar enfermedades cardiovasculares de humanos, aprovechando ventajas como el conocimiento de su genoma, el breve ciclo de vida, la facilidad para criarla y manipularla en el laboratorio, la existencia de gran homología entre sus genes y los de mamíferos y la posibilidad de generar moscas transgénicas. Dado que el transcriptoma y proteoma del corazón de *Drosophila* han sido caracterizados, ahora es preciso identificar funciones de genes y proteínas, reconstruir vías de señalización, estudiar la regulación e interacciones de efectores y correlacionar estos fenómenos con respuestas fisiopatológicas. Esta línea de investigación es novedosa en el país. Al momento, hemos reproducido con éxito técnicas de observación y análisis del corazón de *Drosophila*, con el objeto de evaluar proteínas cardíacas que regulan el manejo del calcio intracelular (Ca²⁺i) y la contractilidad. Nuestro objetivo se enfocó en estudiar proteínas asociadas al acoplamiento éxico-con-

tráctil en *Drosophila*. Nos propusimos realizar un análisis comparativo de secuencias con las proteínas presentes en mamíferos, evaluar sus niveles de expresión en el miocardio de *Drosophila* y compararlos con variaciones de la frecuencia cardíaca a distintas edades. Los alineamientos de secuencia muestran gran homología entre especies, de proteínas como la SERCA, CAMKII y NCX. La SERCA (bomba Ca²⁺ ATPasa del retículo sarcoplasmático) se encuentra en el corazón adulto de la línea salvaje Canton-S de *Drosophila*, colocaliza con proteínas estructurales como F-actina y se concentra en las regiones intercalares. La contractilidad del corazón ha sido medida mediante conteo directo de las contracciones, las que oscilan en valores de 2 ± 0,15 Hz para individuos jóvenes (entre 1 y 15 días luego de emerger el adulto) y hemos observado aumentos transitorios de Ca²⁺ en una línea transgénica que porta la proteína GCAMP3, sensible al aumento de concentración de este ión, mediante microscopía confocal. Con estas aproximaciones experimentales, podemos caracterizar la función cardiovascular de *Drosophila* y a continuación, evaluar cambios del aumento transitorio de Ca²⁺ y contractilidad, asociados al envejecimiento y a situaciones patológicas como arritmias.

Resumen #69: Alteraciones vasculares inducidas por una deficiencia moderada de zinc. Mendes Garrido F, Dasso M, Herrera L, Bouchet G, Elesgaray R, Costa MA, Tomat A, Arranz C. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. IQUIMEFA-CONICET. facundomg@hotmail.com

Objetivos. Evaluar la presión arterial y las alteraciones del sistema del óxido nítrico y de la morfología de la arteria aorta torácica en ratas sometidas a una deficiencia moderada de zinc. Comparar los efectos en machos (m) y hembras (h). **Metodología.** Ratas Wistar hembras recibieron una dieta baja en zinc (B, 8ppm) o control (C, 30ppm) durante la preñez hasta el destete (día 21, crías Cm, Ch, Bm y Bh). Las crías continuaron con dieta B o C durante 60 días post-destete (BBm y BBh, CCm y CCh, BCm y BCh). A los 21 y 81 días de vida se sacrificaron a las ratas para evaluar en cortes histológicos de aorta los espesores de la capa íntima (Ei, µm) y media (Em, µm), y el área de la media (Am, mm²). En aortas de ratas de 21 días se midió la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS, pmol citrulina/g tejido.min) usando [¹⁴C] L-Arginina. A los 81 días se determinó la presión arterial sistólica (PAS, mmHg) por el método de tail-cuff. Análisis estadístico: ANOVA, test a posteriori Bonferroni.

Resultados

Tabla 1. Ratas de 21 días

	Cm	Bm	Ch	Bh
Ei	5,67±0,05	4,47±0,08*	5,9±0,2	4,5±0,2†
Em	71±4	74±2	70±6	69±2
NOS	225±5	172±5*	211±6	179±6†

p<0,01: *vs.Cm, †vs.Ch (n=6 por grupo)

No se observaron diferencias significativas en Am para los grupos de ratas de 21 días.

Tabla 2. Ratas de 81 días

	CCm	BBm	BCm	CCh	BBh	BCh
Ei	5,20±0,05	4,65±0,07*	5,1±0,2‡	5,17±0,08	5,3±0,1‡	5,27±0,2
Em	90±7	69±2*	91±5‡	82±6	82±2	96,4±0,3
Am	0,46±0,02	0,33±0,02*	0,53±0,03‡	0,39±0,02	0,40±0,02	0,437±0,002
PAS	124±3	141±5*	140±3*	124±3	119±7	129±1

p<0,01: *vs.CCm, ‡vs.BBm (n=6 por grupo)

Discusión. Los animales machos con deficiencia de zinc mostraron un remodelado hipotrófico de la íntima de la aorta, que fue corregido cuando consumieron una dieta adecuada hasta la adultez. La disminución de la actividad de la NOS en ratas Bm y Bh de 21 días, sugieren una disfunción endotelial que afectaría la capacidad de los vasos de conductancia de responder adecuadamente ante cambios en el flujo sanguíneo y en las

fuerzas de rozamiento. Las ratas BBm mostraron menor espesor y área de capa media, lo que sugiere un menor tamaño de la aorta. Esto último, junto con la disminución de la producción de óxido nítrico, puede relacionarse con un eventual aumento de la resistencia periférica que explicaría los mayores registros de PAS de este grupo. Los elevados niveles de PAS en los machos no se corrigieron con el cambio de dieta (BCm). Entre las hembras adultas no se observaron diferencias en la morfología aórtica ni en la PAS. Estas son menos sensibles a la deficiencia de zinc, probablemente debido al efecto protector que tienen los estrógenos sobre los vasos. El zinc es un micronutriente importante para el desarrollo y la función arterial. Su deficiencia genera cambios en este tejido que contribuirían a la programación de la enfermedad cardiovascular en la adultez. Se observan diferencias de género en las alteraciones cardiovasculares en respuesta a esta injuria nutricional.

Resumen #70: Tratamiento crónico con péptido natriurético tipo C en ratas espontáneamente hipertensas: estudio de los efectos a nivel vascular. Cerniello M, Caniffi C, Bouchet G, Sueiro L, Muñoz González F, Arranz C, Costa MA. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. IQUIMEFA-CONICET. micaelacerniello@yahoo.com.ar

Trabajos realizados en nuestro laboratorio mostraron que parte de los efectos cardiovasculares de la infusión aguda con péptido natriurético tipo C (CNP) involucran al sistema del NO, tanto en ratas normotensas Wistar como espontáneamente hipertensas (SHR). Objetivo: Estudiar los efectos de la infusión crónica con CNP sobre la presión arterial sistólica (PAS), y la morfología y la reactividad vascular en arteria aorta de ratas jóvenes adultas SHR, analizando la participación del sistema del NO en los mecanismos involucrados. Materiales y métodos: Ratas SHR machos de 12 semanas de edad fueron divididas en dos grupos y se les administró durante 14 días CNP, 0,75 µg CNP/hora (grupo SHR-CNP) o NaCl 0,9 % (SHR-SF) mediante bombas osmóticas subcutáneas. Al finalizar el tratamiento se midió la PAS (mmHg). Las ratas fueron sacrificadas por decapitación y se extrajo la arteria aorta torácica para la determinación de la actividad de la NOS (pmol [U14C]L-citrulina/g tejido.min) utilizando [U14C]L-arginina como sustrato, el área de la media (área media/área total) mediante la tinción hematoxilina-eosina y la reactividad vascular en anillos (3-5 mm), que fueron suspendidos en Krebs (95% O₂ y 5% CO₂; pH: 7,4; 37±0,5°C). Se equilibraron durante 60 minutos a una tensión basal óptima de 1 g. La integridad del endotelio se verificó con acetilcolina (10⁻⁷ a 10⁻⁵ M) y se registró la tensión isométrica con un transductor de fuerza al agregar concentraciones crecientes de fenilefrina (10⁻¹⁰ a 10⁻⁵ M). Análisis estadístico ANOVA dos factores, postest Bonferroni y t test para comparaciones entre 2 grupos. Los resultados se expresan como media ± ESM, n= 4 ratas/grupo. Resultados: La infusión crónica con CNP disminuyó la PAS (SHR-SF= 174,7±3,4; SHR-CNP= 159,4±4,9*; *p<0,01 vs SF) e indujo un aumento de la actividad de la NOS en la arteria aorta (SHR-SF=116,7±16,0; SHR-CNP=202,4±3,6*; *p<0,05 vs SF). En cuanto a la potencia vasoconstrictora de la fenilefrina (expresada como el logaritmo negativo de la concentración que produce el 50% de la respuesta vasoconstrictora máxima) no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos de animales (SHR-SF= 6,19 ±0,10; SHR-CNP=6,11±0,20*; ns), sin embargo los animales que recibieron infusión crónica con CNP presentan una disminución del área media medida en arteria aorta (SHR-SF= 0,66±0,06; SHR-CNP=0,50±0,02*; *p<0,05 vs SF). En conclusión, el tratamiento crónico con CNP induce un remodelado beneficioso a nivel vascular acompañado de un aumento de la biodisponibilidad del NO en este modelo de hipertensión arterial.

Resumen #71: Efectos del tratamiento crónico con péptido natriurético tipo C sobre la función cardíaca. Participación del sistema del óxido nítrico. Wenk G, Caniffi C, Bouchet G, Romero M, Cerniello M, Savignano L, Arranz C, Costa MA. Cátedra de Fi-

siología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. IQUIMEFA-CONICET. gre.pw@live.com.ar

El péptido natriurético tipo C (CNP) está ampliamente distribuido en el sistema cardiovascular, principalmente en las células endoteliales, y en los fibroblastos y miocitos cardíacos, situación que lo coloca estratégicamente formando parte de los mecanismos involucrados en la regulación de la PA y en la protección de tejidos, como el corazón y los vasos, frente a la hipertensión. Objetivo: Evaluar los efectos de la administración crónica del CNP sobre la función cardíaca y la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) en ventrículo izquierdo (VI) de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Materiales y Métodos: Ratas SHR de 12 semanas de edad (n=4 animales/grupo) recibieron una infusión (bombas osmóticas subcutáneas) de CNP (0,75 µg/hr/rata) o solución fisiológica (SF), durante 14 días. Al finalizar este período, se midió la presión arterial sistólica (PAS, mmHg), la frecuencia cardíaca (FC) y se evaluó la función ventricular izquierda mediante ecocardiograma, midiendo los siguientes parámetros en diástole (d) y en sístole (s): tabique interventricular (TIVd, TIVs; mm), diámetro (DVId, DVIs; mm) y pared libre del ventrículo izquierdo (PLVId, PLVIs; mm); volumen de fin de diástole (VFD; ml) y sístole (VFS; ml), volumen sistólico (VS, ml), volumen minuto (VM, ml/min) y fracción de eyección (FE%). Se sacrificaron los animales y se les extrajo VI para determinar actividad NOS (pmol [U14C]L-citrulina/g tejido.min) utilizando [U14C]L-arginina como sustrato. Análisis estadístico: t-test para comparaciones entre dos grupos. Resultados: La infusión crónica con CNP disminuyó PAS (SF= 174,7±3,4; CNP= 159,4±4,9*; *p<0,01 vs SF). El CNP indujo un aumento de la actividad de la NOS cardíaca (SF= 255,3±4,7; CNP= 371,0±8,1*; *p<0,001 SF vs CNP). Los resultados obtenidos a partir del ecocardiograma fueron los siguientes: SF: TIVd= 1,87±0,06; TIVs=2,62±0,24; DVId= 5,40 ± 0,17; DVIs= 3,60 ± 0,36; PLVId=2,52±0,11; PLVIs=2,92±0,20; VFD= 0,16 ± 0,02; VFS= 0,05 ± 0,02; FE= 69,5 ± 6,3; VS= 0,11 ± 0,01; FC= 435 ± 10; VM= 47,85 ± 2,01; CNP: TIVd= 1,90±0,05; TIVs=2,86±0,15; DVId= 6,10 ± 0,29; DVIs= 4,02 ± 0,43; PLVId=2,48±0,19; PLVIs=3,00±0,29; VFD= 0,23 ± 0,03; VFS= 0,07 ± 0,03; FE= 70,60 ± 5,61; VS= 0,16 ± 0,02*; FC= 434 ± 15; VM= 68,80 ± 7,35. # p<0,05 vs VFD SF *p<0,05 vs VS SF, ^p<0,05 vs VM SF. Conclusión: Nuestros resultados muestran que el tratamiento crónico con CNP disminuye la PAS, aumenta la actividad de la NOS en el ventrículo izquierdo y mejora la eficiencia cardíaca en este modelo de hipertensión arterial.

ENDOCRINO

Resumen #19: Efecto del tratamiento con insulina en ratones diabéticos sobre la proliferación hepatocitaria. Francés DE¹, Ronco MT¹, Monti J¹, Pisani G², Parody JP¹, Carrillo MC¹, Carnovale CE¹. ¹Instituto de Fisiología Experimental (IFISE-CONICET)-UNR. ²Área Morfología, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas-UNR. frances@ifi-se-conicet.gov.ar

La Diabetes Mellitus (DM) es considerada como una patología inflamatoria con un incrementado riesgo para el desarrollo del carcinoma hepatocelular (HCC). Múltiples mecanismos pueden ser los responsables del inicio del HCC en pacientes diabéticos. Durante la enfermedad hepática asociada a la diabetes, el hígado está expuesto a altas concentraciones de citoquinas características de un cuadro inflamatorio, además, los pacientes con DM tipo 1 reciben, desde el inicio de la patología, insulina en dosis farmacológicas. Diferentes citoquinas y cambios epigenéticos que incluyen mutaciones puntuales en los genes supresores de tumores, metilación del ADN y modificaciones post-transcripcionales producen alteraciones en las vías de señalización implicadas en el desarrollo y progresión de cáncer. El incremento de la proliferación es considerado una importante causa de procesos de hepatocarcinogénesis. En trabajos anteriores demostramos el rol anti-apoptótico de la insulina en el hígado de ratas diabéticas. Para evaluar el efecto de la administración de insuli-

na durante 14 días sobre el incremento en la proliferación hepatocitaria en animales diabéticos, se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6. Se los separó en tres grupos experimentales: Control (Buffer Citrato, pH 4,5), diabéticos (tratados con Estreptozotocina, 200mg/kg p.c. en buffer citrato pH 4,5, DBT) y diabéticos tratados con insulina durante 14 días, DBT+I) (n= 4 c/u). Se adecuaron las dosis de insulina en DBT+I de manera de mantener la glicemia en el rango 6-9 mM. El tratamiento con insulina normalizó los parámetros alterados en el estado diabético (DBT): glicemia, GOT, GPT y niveles plasmáticos de fructosaminas. Por otra parte, el Grupo DBT+I mostró un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$, utilizando *One way Anova*, seguido por test de Tukey) en Relación Peso Hígado/Peso Corporal (+15%), además, el análisis inmunohistoquímico reveló un aumento en el índice de marcación (+140%, hepatocitos en fase S/100 hepatocitos) y el índice de proliferación (+245%, número de hepatocitos en fase G1, S, G2 y M) en comparación con el grupo Control. Específicamente, por Wester Blot se analizó en extractos nucleares marcadores de progresión en el ciclo celular como ciclina D1 (CycD1) y PCNA (antígeno nuclear de células en proliferación) o represores tumorales como p53. El grupo DBT mostró los menores valores tanto en CycD1 como en PCNA, mientras que el tratamiento con insulina condujo a un aumento del 50% y del 37% respectivamente ($p < 0,05$). Además, el grupo DBT mostró un aumento del 200% en los niveles nucleares de p53 con respecto a Control, mientras que el tratamiento con insulina normalizó completamente la situación. Se evidenció un desbalance entre los marcadores de sobrevida y muerte celular producido por la continua administración de insulina, llevando a un aumento de las señales de proliferación celular, siendo este uno de los posibles mecanismos responsables del inicio del HCC en pacientes diabéticos.

Resumen #40: Participación del sistema endocannabinoide en la respuesta neuroendócrina al estrés agudo de inmovilización en ratas. Luce V, Correa F, Rettori V, De Laurentiis A. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CEFYBO-CONICET-UBA, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires andredelaurentiis@yahoo.com

El sistema endocannabinoide emergió recientemente como modulador/mediador de las respuestas comportamentales, neuroquímicas, neuroendocrinas, neuroinmunes y moleculares al estrés. La respuesta neuroendócrina al estrés es un proceso finamente sincronizado que involucra neuropéptidos y hormonas y en cuya regulación participaría el sistema endocannabinoide. Estudiamos la posible participación del sistema endocannabinoide en la respuesta neuroendócrina al estrés neurogénico mediante la manipulación farmacológica de este sistema in vivo en ratas estresadas de forma aguda e in vitro en glándulas adrenales incubadas con ACTH. Ratas macho adultas Sprague Dawley fueron inmovilizadas por 30 min. Una semana previa al experimento fueron implantadas estereotáxicamente con una cánula en el 3º ventrículo cerebral para administrar localmente (intracerebroventricular, icv) fármacos que modifican al sistema endocannabinoide. Las drogas se administran 15 min previos al estrés. Determinamos corticosterona en plasma por RIA. La inmovilización aumentó ($***p < 0.001$) los niveles plasmáticos de corticosterona. La anandamida (AEA, 50ng/5ul, icv) y el inhibidor de la enzima FAAH que degrada anandamida (URB597, 50ugr/50ul, icv) bloquearon ($^^^p < 0.001$) el aumento de corticosterona inducido por estrés. El bloqueo de ambos subtipos de receptores cannabinoides hipotalámicos CB1 (AM251, 500ng/5ul, icv) y CB2 (AM630, 500ng/5ul, icv) aumentó ($*p < 0.05$) los niveles plasmáticos de corticosterona elevados por el estrés. La administración intraperitoneal (ip) del antagonista de receptores cannabinoides CB1 (AM251, 2mg/kg, ip) aumentó ($*p < 0.05$) los niveles plasmáticos de corticosterona tanto en ratas no estresadas como en las sometidas a estrés agudo de inmovilización. La administración periférica de URB597 (0.3mg/kg, ip) y metanandamida (MetAEA, 2.5mg/kg, ip), un análogo sintético no hidrolizable de la anandamida,

disminuyeron ($^^^p < 0.001$) los niveles plasmáticos de corticosterona aumentados por el estrés agudo. Previamente hemos demostrado la expresión y función de los receptores cannabinoides CB1 en la corteza adrenal. La incubación de glándulas adrenales tanto con anandamida (AEA, 10-9M) como con URB597 (3uM) bloqueó ($^^p < 0.01$) el efecto estimulador ($***p < 0.001$) de ACTH (10-9M) sobre la secreción de corticosterona in vitro. En conclusión, el sistema endocannabinoide hipotalámico y adrenal bloquean el incremento de corticosterona plasmática inducida por estrés agudo de inmovilización. El efecto "anti-estrés" de la anandamida se produce actuando vía ambos subtipos de receptores. Dilucidar la compleja interrelación entre los mediadores neuroendócrinos y el sistema endocannabinoide permitirá, en un futuro, el desarrollo de terapias en las cuales este sistema será una herramienta útil para revertir los efectos deletéreos del estrés así como para permitir la recuperación de la homeostasis luego del mismo.

FISIOLOGIA CELULAR

Resumen #3: Participación de AKAP350 centrosomal en la migración de células HepG2. Tonucci F, Mattaloni SM, Ferretti AC, Favre C, Larocca MC. Instituto de Fisiología Experimental, Fac. Cs. Bioq. Farm. CONICET-UNR. tonucci@ifise-conicet.gov.ar

AKAP350 (AKAP450 o CG-NAP) es una proteína de anclaje de PKA que tiene un rol fundamental en la nucleación de microtúbulos en el aparato de Golgi y en los centrosomas. Ambas organelas intervienen en la polarización de células epiteliales, tanto durante el desarrollo de la polaridad apico-basolateral, como en la adquisición de un fenotipo migratorio en la transición epitelio-mesenquimal. Estudios previos de nuestro y otros grupos indican que AKAP350 es clave para la adquisición de la polaridad apical en células HepG2 y en la migración direccionada en las células epiteliales RPE1, y que los mecanismos implicados involucran la nucleación de microtúbulos por el aparato de Golgi. Nuestro objetivo en este trabajo fue estudiar la participación de AKAP350 centrosomal en la biogénesis canalicular y en la migración de células HepG2. Establecimos líneas celulares que expresan el dominio de localización centrosomal de AKAP350 fusionado a GFP (AKAP350 CTD) exclusivamente en centrosomas, lo que induce el desplazamiento de AKAP350 de esta organela. Realizamos el análisis cuantitativo de imágenes obtenidas por microscopía confocal de fluorescencia con el fin de evaluar la formación de estructuras canaliculares (canalículos/100 células) en células AKAP350 CTD comparadas con células que expresan sólo GFP (Control). Estos estudios revelaron que la deslocalización centrosomal de AKAP350 no alteró la formación de canalículos (Control 17 ± 3 ; AKAP350 CTD 20 ± 4). Por otro lado, estudiamos la migración de células HepG2 mediante ensayos de "Wound Healing", evaluando el porcentaje de cierre de la herida a las 40 hs. Generamos células con disminución de la expresión de AKAP350 utilizando RNA de interferencia (AKAP350 KD) en las que comprobamos que, tal como fuera descrito para células RPE1, AKAP350 interviene en la migración de las células HepG2 (Control $19\% \pm 1$; AKAP350KD $14\% \pm 2^*$). El análisis de la respuesta de las células AKAP350 CTD en los ensayos de "Wound Healing" indicó una inhibición del 50% en el cierre de la herida (Control $21\% \pm 2$; AKAP350 CTD $10 \pm 2^*$). Con el fin de confirmar la participación de AKAP350 centrosomal en la migración celular, evaluamos en forma conjunta el comportamiento de células controles y AKAP350 CTD durante los ensayos de "Wound Healing", mediante microscopía confocal de fluorescencia. Nuestros resultados mostraron una relación de células AKAP350 CTD/Control en el "leading edge" significativamente menor que en el resto de la monocapa celular (Monocapa: $1,0 \pm 0,3$; "leading edge": $0,3 \pm 0,2^*$). Estos datos en suma indican que AKAP350 centrosomal participa en la migración direccionada en células HepG2. Nuestros próximos estudios se orientarán a analizar si AKAP350 centrosomal interviene en el posicionamiento correcto del aparato de Golgi durante el establecimiento de la polaridad antero-posterior en células migratorias. * $p < 0,05$

Resumen #8: Evidencias de muerte por necrosis en células HepG2 con knockdown de aquaporina-8 mitocondrial. Marchissio MJ, Francés DEA, Carnovale CE, Marinelli RA. Instituto de Fisiología Experimental, CONICET, Universidad Nacional de Rosario, Argentina. mjuliam17@hotmail.com

Las mitocondrias hepáticas constituyen fuentes importantes de generación de la especie reactiva del oxígeno peróxido de hidrógeno (H₂O₂), como así también blanco de su potencial acción deletérea. La proteína canal aquaporina 8 (AQP8) humana tiene la capacidad de facilitar la difusión del H₂O₂ y se encuentra presente en la membrana interna mitocondrial de células HepG2, derivadas de hepatoma humano. Previamente encontramos que en estas células, el knockdown de la AQP8 mitocondrial (mtAQP8) por ARN de interferencia, disminuye la normal liberación del H₂O₂ mitocondrial; esto causa disfunción de dicha organela a través del mecanismo del poro de transición de permeabilidad mitocondrial y pérdida de viabilidad celular por un mecanismo que no involucra la activación de la vía mitocondrial de muerte celular por apoptosis. A fin de avanzar en estos estudios, evaluamos la liberación de LDH respecto a su pool intracelular, la exclusión del colorante azul tripán y el nivel intracelular de ATP. Las células con knockdown de mtAQP8 mostraron un incremento del 110% (p < 0,05) en la LDH liberada, una pérdida de viabilidad del 30% (p < 0,05) medida por azul tripán y una disminución del 40% (p < 0,05) del nivel intracelular de ATP. Estudios de citometría de flujo utilizando el test de AnnexinaV-IP, indicaron que el knockdown de mtAQP8 aumentó el número de células necróticas (aproximadamente 50%), sin incremento significativo del porcentaje de células apoptóticas. La observación microscópica de las células con tinción nuclear con DAPI confirmó la no inducción de apoptosis en las células con knockdown de mtAQP8. Estos resultados, sumados a los previamente obtenidos, sugieren que el silenciamiento de mtAQP8 en células HepG2, reduce la liberación mitocondrial de H₂O₂ causando disfunción de dicha organela a través del mecanismo del poro de transición de permeabilidad mitocondrial y la pérdida de viabilidad por un mecanismo primario de muerte celular compatible con necrosis.

Resumen #17: El ADP: un novedoso modulador del volumen celular en células de hepatoma humano Huh-7. Espelt MV, Alvarez C, de Tezanos Pinto F, Schwarzbaum PJ. IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. vicespelt@gmail.com

La exposición de células hepáticas y de hepatoma a medios hipotónicos, induce el aumento del volumen celular seguido de la pérdida de iones y agua. Esto provoca la disminución regulatoria del volumen celular (RVD) que tiende a restaurar los valores de volumen a niveles control. En varios sistemas celulares el RVD puede ser modulado por la interacción entre nucleótidos extracelulares con receptores purinérgicos P2 y con enzimas de superficie llamadas eNTPDases. El objetivo del presente trabajo es estudiar la variación de volumen en células Huh-7 incubadas en medio hipotónico (Hypo), y el rol del ATP y/o ADP extracelulares en el RVD. La exposición de las células a Hypo generó salida de ATP y aumento del volumen celular seguido de RVD de 40.8±7.80 % a los 40 min (RVD40). En Hypo con apirasa, una enzima que remueve el ATP y el ADP extracelulares, el RVD fue similar al observado en Hypo solo (RVD40_{api}=42.2±9.71 %) indicando que el ATP extracelular (ATPe) no mediaría el RVD. Sin embargo, en presencia de Hypo+Cibacron Blue+Suramina (inhibidores de receptores P), se inhibió el RVD sugiriendo un posible papel de los nucleótidos extracelulares en la respuesta. Las células incubadas en Hypo+Na+/K+ ATPasa (enzima que cataliza la conversión de ATP a ADP) mostraron una regulación completa de volumen (RVD40=106.1±14.31%), sugiriendo un posible rol del ADPe sobre el RVD. Resultados similares se observaron al agregar el agonista de ADP, 2-Metil tio ADP, mientras que un inhibidor del receptor P2Y13 revirtió esta activación. Experimentos de RT-PCR mostraron la presencia de mRNA para el receptor P2Y13 y para eNTPDasa 2 (enzima que princi-

palmente hidroliza ATP a ADP). Por otro lado, en medio hipotónico la concentración de ATPe aumentó 2.4 veces y la de ADPe 39 veces sobre el valor isotónico basal. Tanto la Brefeldina A (inhibidor de la exocitosis) como el carbenoxolone (inhibidor de Panexina1) inhibieron parcialmente la salida de ATP. Los resultados muestran por primera vez al ADP extracelular como molécula activadora del RVD a través de su interacción con el receptor P2Y13. En cuanto al origen del ADPe, se postula que el medio hipotónico induciría la salida de ATP por al menos dos vías, y que el ATPe resultante podría ser convertido a ADPe por medio de la eNTPDasa 2. Realizado con subsidios UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187) y ANPCyT (0151).

Resumen #35: Efecto del flujo luminal sobre la respuesta reguladora de volumen en células renales. Pizzoni A, Fernandez JM, Di Giusto G, Rivarola V, Capurro C, Ford P. Laboratorio de Biomembranas, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. pford@fmed.uba.ar

Durante la transición de la diuresis a la anti-diuresis las células de los túbulos colectores (TC) del riñón de mamífero están expuestas a cambios del gradiente osmótico y modificaciones del flujo tubular. En el estado de anti-diuresis la acción de la hormona vasopresina induce la incorporación de la acuaporina 2 (AQP2) a la membrana apical provocando una importante reabsorción de agua desde la luz al intersticio. Este movimiento de agua implica cambios en el volumen celular y en la activación de mecanismos de regulación de volumen. Previamente, describimos en células renales, que la presencia de AQP2 facilita la entrada de Ca²⁺, necesaria para la activación de los mecanismos rápidos de regulación del volumen celular en respuesta a un shock hipotónico (RVD) (Galizia et al, 2008). Además informamos la existencia de una interacción funcional entre el canal de calcio TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloid 4) y AQP2 que involucra la translocación del TRPV4 a la membrana plasmática (Galizia et al, 2012). Todos estos experimentos se realizaron en ausencia de flujo luminal. Con el objetivo de estudiar si la respuesta reguladora de volumen en células renales que expresan o no AQP2 (AQP2-RCCD1, WT-RCCD1), se modifica en presencia de un flujo luminal (situación más cercana a la fisiológica) profundizamos las células con una solución hipotónica (4 ml/min; 200 mOsm). Encontramos que tanto en las células WT como en las AQP2-RCCD1 existe un aumento de la respuesta reguladora de volumen (% RVDf) en comparación con experimentos realizados en ausencia de perfusión (% RVDNF) (% RVDNF-WT: 15.7 ± 1.1 vs % RVDf-WT: 69.4 ± 4.5, p < 0.01; % RVDNF-AQP2: 38.2 ± 1.06 vs % RVDf-AQP2: 66.5 ± 4.80, p < 0.01). Para investigar si este aumento se debía a una activación del TRPV4 estudiamos en las mismas condiciones los cambios en la concentración intracelular de calcio. Los resultados no mostraron diferencias significativas en las células WT y solo se observó un pequeño aumento en los niveles de calcio en las células que expresan AQP2. Por lo tanto podemos concluir que la perfusión aumentó el RVD independientemente de la expresión de AQP2 por un mecanismo que no involucra al TRPV4. El aumento de la actividad de los mecanismos reguladores de volumen podría deberse a la activación de una vía estimulada por flujo no dependiente de calcio o por efecto de la modificación de la fuerza impulsora. Ref.: Galizia L., Flamenco M. P., Rivarola V., Capurro C., and P. Ford. Am J Physiol Renal Physiol 294: F582-F590, 2008. Galizia L, Pizzoni A, Fernandez J, Rivarola V, Capurro C, Ford P. J Cell Biochem. 113: 580-589, 2012.

Resumen #48: Participación del TRPV4 en la proliferación de células renales que expresan AQP2. Di Giusto G, Rivarola V, Pizzoni A, Fernández J, Ford P y Capurro C. Laboratorio de Biomembranas, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. gdigusto@fmed.uba.ar

Nuestros estudios previos demostraron que la presencia del canal de agua Acuaporina 2 (AQP2) aumenta la tasa de proliferación de células renales debido a una disminución de los tiempos de tránsito a través de

las fases S y G2/M del ciclo celular (Rivarola et al., J Cell Physiol., 2010) Mostramos, además, que este aumento en la proliferación de las células que expresan AQP2 involucra una coordinada modulación de la actividad RVD (Regulatory Volume Decrease) en respuesta a los cambios en el volumen celular que ocurren normalmente durante el ciclo celular (Di Giusto et al., J Cell Biochem., 2012). Nuestra hipótesis plantea que la AQP2 formaría parte de un "complejo funcional de sensor" requerido para la activación de las respuestas reguladoras de volumen. Como ya hemos descrito, la activación de los mecanismos rápidos de RVD en células que expresan AQP2 es dependiente de un incremento en la concentración de calcio intracelular mediado por el canal TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloid 4) (Galizia et al., J Cell Biochem., 2012). Por lo tanto, nos planteamos como objetivo del siguiente trabajo estudiar la participación del TRPV4 en el aumento de la proliferación de células que expresan AQP2. Como modelo experimental utilizamos dos líneas celulares de túbulo colector cortical: WT-RCCD1 que no expresa AQP2 y AQP2-RCCD1 que expresa constitutivamente AQP2 en la membrana apical. En primer lugar, estudiamos la expresión del TRPV4 mediante inmunoblotting e inmunofluorescencia. Luego, analizamos la proliferación celular en presencia de un bloqueante de canales TRPVs (Rojo de Rutenio, RR), y de un activador específico del TRPV4 (4 α PDD, 4 α -forbol 12,13-didecanoato). Los experimentos de inmunoblotting no mostraron diferencias significativas en los niveles de expresión del TRPV4, ni en homogenizados ni en membranas plasmáticas, de células WT-RCCD1 y AQP2-RCCD1. Las imágenes obtenidas mediante microscopía de fluorescencia corroboraron estos resultados. Cuando estudiamos la proliferación celular observamos que, por un lado, el tratamiento con RR (10 μ M, 48 h) no afectó el crecimiento de las células WT-RCCD1 pero redujo significativamente el número de células AQP2-RCCD1, arrojándolas en la fase G1 del ciclo celular. Por otra parte, el tratamiento con 4 α PDD (0.1 μ M, 24 h) aumentó significativamente la proliferación de células WT-RCCD1 hasta un nivel similar al observado para las AQP2. Estos resultados indican que, si bien ambas líneas celulares expresan el TRPV4, en presencia de AQP2 ocurre una activación diferencial del canal de calcio que podría explicar el aumento de la proliferación observado en las células AQP2-RCCD1.

Resumen #50: Rol de la isoforma 2 del intercambiador Na⁺/H⁺ (NHE2) en la proliferación de células renales: papel de la expresión de la acuaporina 2 (AQP2) Rivarola V, Di Giusto G, Fernández J, Ford P y Capurro C. Laboratorio de Biomembranas. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. rvivarola@yahoo.com

Previamente mostramos en células renales que la expresión del canal de agua acuaporina 2 (AQP2) induce una aceleración del ciclo celular mediada por un acortamiento del tránsito a través de las fases S y G2 del mismo (Rivarola et al., J. Cell. Physiol 2010). Esta proliferación aumentada en presencia de AQP2 podría deberse a que durante el pasaje por el punto de restricción, desde la fase G1 a la fase S del ciclo celular, existe una inhibición en el RVD (mecanismos de regulación que disminuyen el volumen celular) que permitiría a las células aumentar rápidamente su volumen y continuar su progresión por el ciclo celular (Di Giusto et al., J. Cell. Biochem, 2012). Esta disminución podría estar acompañada de un aumento del RVI (mecanismos de regulación que aumentan el volumen celular). Por otra parte, nuestros trabajos previos mostraron que en las células renales la NHE2 participaría en el RVI (Ford et al J. Memb. Biol. 2002). Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue investigar si el NHE2 participaría en la proliferación celular. Para ello se utilizaron dos líneas celulares de túbulo colector cortical con características bien definidas: WT-RCCD1 la cual no expresa AQP2 y AQP2-RCCD1 que expresa constitutivamente AQP2 en la membrana apical. Se utilizaron células no sincronizadas (mayoritariamente en G1) o sincronizadas en la fase S del ciclo celular (con timidina). Se realizaron estudios funcionales de medición de pH intracelular (pHi) y de expresión proteica por inmunolocalización

en monocapas celulares y western blot en preparaciones de membranas plasmáticas, citosólicas y nucleares. Los resultados muestran que, si bien existe una fracción similar de NHE2 en la membrana plasmática de ambas líneas celulares, la localización del transportador es mayoritariamente nuclear y perinuclear. Por otra parte la expresión total y función del NHE es mayor en las células que expresan AQP. Al inhibir la NHE2 disminuye más la proliferación de las células AQP2-RCCD1 que la de las WT-RCCD1. En la fase S del ciclo celular observamos que mientras que la actividad de intercambio del NHE2 de las células AQP2 no cambia, la de las WT está disminuida. Paralelamente observamos una disminución de la expresión citosólica y nuclear de la NHE2 de las células WT. En las células que expresan AQP2 estos parámetros no cambiaron. En conjunto estos resultados sugieren que, mientras que la isoforma NHE2 permanece activa durante la fase S del ciclo celular de las células que expresan AQP2 disminuye en las células WT. Nuestra hipótesis plantea que la proliferación aumentada en presencia de AQP2 podría deberse a una actividad mayor de la respuesta reguladora de volumen RVI en estas células que favorecería un aumento más rápido de volumen y por ende una progresión más rápida hacia la fase S del ciclo celular.

GASTROINTESTINAL

Resumen #5: Ureagénesis basal y estimulada por glucagon en cultivo primario de hepatocitos con knockdown de la AQP8 mitocondrial. Soria LR, Marrone J, Tabora DR, Marinelli RA. Instituto de Fisiología Experimental (IFISE-CONICET), Universidad Nacional de Rosario. soria@ifise-conicet.gov.ar

La detoxificación mitocondrial del amoníaco en el hepatocito por ureagénesis es fundamental para la prevención de la hiperamonemia y encefalopatía hepática. Estudios previos de nuestro laboratorio utilizando trazadores específicos, sugieren que la Aquaporina-8 mitocondrial (mtAQP8) del hepatocito de rata facilitaría la difusión del amoníaco abasteciendo el ciclo de la urea. Objetivo: evaluar la producción de urea a partir de diferentes fuentes de nitrógeno en hepatocitos con knockdown de mtAQP8. Metodología y Resultados: hepatocitos de rata en cultivo primario, controles y con expresión disminuida de mtAQP8 (-80%, $P < 0,05$), fueron testeados en su capacidad de sintetizar urea en condiciones basales y de estímulo, exponiéndolos a la hormona glucagon por 4 h. El knockdown de mtAQP8 no alteró la viabilidad celular. Las células con knockdown de mtAQP8 en presencia de NH4Cl (1 mM), mostraron una disminución en la ureagénesis del 30% ($P < 0,05$). Consecuentemente, los niveles de amoníaco en el medio de cultivo se hallaron significativamente elevados. Glucagon estimuló la ureagénesis en hepatocitos controles (+120%, $P < 0,05$). Sin embargo, la síntesis de urea inducida por glucagon fue inhibida un 90% ($P < 0,05$) en las células con knockdown de la mtAQP8. En contraste, el silenciamiento de mtAQP8 no evidenció cambios significativos en la ureagénesis basal y estimulada por glucagon cuando los hepatocitos fueron incubados con los aminoácidos glutamina (4 mM) o alanina (4 mM), como fuente de nitrógeno. Conclusión: nuestros datos sugieren que la mtAQP8 participa en la ureagénesis (basal y estimulada por glucagon) específicamente cuando el sustrato a metabolizar es el amoníaco. Esta evidencia constituye un apoyo adicional a nuestra hipótesis que postula a la mtAQP8 como facilitador del transporte mitocondrial del amoníaco derivado a la síntesis de urea, un mecanismo relevante en el metabolismo hepático del nitrógeno y así en la prevención de los efectos deletéreos de la hiperamonemia.

Resumen #9: Transferencia génica de Aquaporina-1 humana (hAQP1) a animales con colestasis hepatocelular. Marrone J, Lehmann GL, Soria LR, Marinelli RA. Instituto de Fisiología Experimental (IFISE-CONICET), Universidad Nacional de Rosario. marrone@ifise-conicet.gov.ar

La secreción biliar canalicular es un proceso osmótico, donde el flujo secundario de agua es principalmente transcelular y se realiza a través de canales de agua denominados aquaporinas (AQPs). Estudios *in vitro* e *in vivo*, demostraron que una falla secretoria biliar (i.e. colestasis) se asocia a una expresión defectuosa de la AQP8 canalicular del hepatocito y a la consecuente disminución en la permeabilidad osmótica de membrana al agua. El objetivo de este trabajo fue restablecer la permeabilidad al agua de la membrana canalicular del hepatocito en animales colestásicos induciendo la expresión *in vivo* de AQPs. Se utilizó el modelo de colestasis inducida por estrógenos: ratas Wistar macho adultas fueron tratadas con 17 alfa-etinilestradiol (EE) (5 mg/kg p.c./día) en forma subcutánea durante 5 días. El adenovector AdhAQP1 (generado y donado por BJ Baum, Gene Transfer Laboratories, NIH, USA) o el vector control AdβGal, se administraron por vía retrobiliar a una dosis de 5×10^9 UFP. Estudios de inmunofluorescencia y microscopía confocal en animales colestásicos, confirmaron la expresión y localización de hAQP1 en la membrana plasmática de los hepatocitos, en sus dominios canaliculares y basolaterales, a las 72 h post-administración del vector. La permeabilidad osmótica al agua se evaluó por espectrofotometría de flujo detenido en vesículas altamente purificadas correspondientes a los dominios canaliculares de hepatocitos obtenidos a partir del hígado de ratas colestásicas tratadas con el vector AdhAQP1 (EEAdhAQP1) o con el vector AdβGal (EEAdβGal). Las constantes de velocidad (Kexp) fueron: $21,1 \pm 0,3$ (EEAdβGal) vs. $463,1 \pm 29,7$ (EEAdhAQP1) evidenciando un aumento de aproximadamente 20 veces para las vesículas que expresaron hAQP1. Así, la transferencia adenoviral de hAQP1 podría resultar una estrategia útil para futuros estudios dirigidos a atenuar un cuadro colestásico y orientados a evaluar la posible implicancia del aumento de la permeabilidad osmótica al agua canalicular inducida por AQPs.

Resumen #11: Fosfatasa alcalina salival como medio de diagnóstico de Periimplantitis. Azzi EJ, Acuña MJ, Juárez RP. Cátedra de Fisiología Humana. Facultad de Odontología. UNNE.856217. ropablojuarez@gmail.com

Las periimplantitis son infecciones ocasionadas por biofilms bacterianos alrededor de implantes osteointegrados, que producen la disminución de los niveles óseos, pudiendo ocasionar la pérdida de los implantes. Múltiples métodos de diagnóstico son conocidos y determinan el grado de destrucción que presentan los tejidos periodontales durante el examen clínico, pero no muchos de ellos se ocupan en determinar la actividad o no actividad enzimática que presentan los microorganismos causantes de la periimplantitis, como es la determinación de la enzima fosfatasa alcalina (FAL) como marcador bioquímico de la enfermedad periimplantaria. El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre la concentración de la fosfatasa alcalina en la saliva y el estado periodontal de implantes dentarios osteointegrados. La muestra estuvo conformada por 45 pacientes que acudieron al sector de Clínicas, Servicio de Urgencias y Derivación de Pacientes de la Facultad de Odontología dependiente de la Universidad Nacional del Nordeste, de sexo masculino y con un rango de entre 40 (cuarenta) a 60 (sesenta) años de edad. Se seleccionaron pacientes totalmente desdentados, tratados con implantes dentarios osteointegrados. Se confeccionaron la historia clínica médica y dental, que incluyó un examen periodontal a cada uno de los pacientes. Se evaluaron todos los implantes presentes en boca determinando la profundidad del surco gingival en las cuatro superficies v, p/l, m y d, utilizando el sondeo periodontal como método de diagnóstico convencional. De acuerdo a la profundidad al sondaje los pacientes se dividieron en tres grupos: 1) 15 pacientes con profundidad al sondaje de 2 mm (control, G1); 2) 15 pacientes con profundidad al sondaje de 3-4 mm (G2) y 3) 15 pacientes con profundidad al sondaje de más de 5 mm (G3). Se determinó la actividad de la enzima Fosfatasa Alcalina en saliva con la Técnica de diagnóstico no

convencional-Fosfatasa alcalina salival, previa recolección de saliva (no estimulada). Para la lectura de las muestras, se empleó un Espectrofotómetro "Spectrum" SP 2100 UV con Display digital. Lectura en T %, Absorbancia y Concentración. La concentración de fosfatasa alcalina fue en el G1: 103.64 ± 17.59 UI/l, G2: 252.91 ± 67.90 UI/l y G3: $333,50 \pm 118.95$ UI/l. El análisis de varianza indicó que existen diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.0001$) y la prueba de Duncan que el G3 es estadísticamente superior a los otros grupos. Los hallazgos nos permiten afirmar que podemos utilizar la FAL salival como medio de diagnóstico no convencional de la periimplantitis.

Resumen #13: Concentraciones fisiológicas de bilirrubina no conjugada (BNC) previenen la injuria oxidativa hepatocelular. Basiglio CL, Toledo FD, Arriaga SM, Sánchez Pozzi EJ, Ochoa JE, Mottino AD, Roma MG. Instituto de Fisiología Experimental (IFI-SE - CONICET) y Area Bioquímica Clínica, Dpto. Bioquímica Clínica Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. basiglio@ifise-conicet.gov.ar

La BNC es considerada actualmente un importante antioxidante endógeno con propiedades citoprotectoras, y diversos estudios destacan su valor potencial en el tratamiento de numerosas patologías pro-oxidantes. El estrés oxidativo (EO) está involucrado en la patogénesis de la mayoría de las enfermedades hepáticas. Nuestro grupo y otros han demostrado que el EO provoca colestasis por internalización endocítica de transportadores canaliculares claves para la secreción biliar (Bsep, Mrp2), vía redistribución de actina. En este trabajo, evaluamos la capacidad de BNC para limitar el EO y las alteraciones en la función secretora biliar inducida por el agente pro-oxidante modelo tert-butilhidroperóxido (tBOOH). Hepatocitos aislados de rata se pretrataron con una concentración fisiológica de BNC (17 μ M) y luego con tBOOH (100 μ M). BNC previno completamente la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) inducida por tBOOH, evaluada con la sonda intracelular fluorescente 2',7'-diclorofluoresceína ($p < 0,05$; $n=4$). BNC previno en 40% la lipoperoxidación de membrana inducida por tBOOH, evaluada por la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), en aprox. un 40% ($p < 0,05$; $n=4$). Se aislaron hígados de rata y se perfundieron *in situ* con BNC (2,1 μ M; 15 min), y luego con tBOOH (75 μ M; 10 min). tBOOH, administrado solo, produjo una caída aguda del flujo biliar ($0,75 \pm 0,2$ vs. $1,5 \pm 0,3$ μ l/min/g híg.), así como un aumento abrupto (250 veces) de la excreción de glutatión oxidado. BNC previno completamente ambas alteraciones ($p < 0,05$; $n=5$). Asimismo, BNC previno la caída inducida por tBOOH en la excreción de taurocolato, sustrato de Bsep en un 60% ($p < 0,05$; $n=4$), y de dinitrofenilglutacion, sustrato de Mrp2 en un 90% ($p < 0,05$; $n=4$). En duplas aisladas de hepatocitos de rata, tBOOH (100 μ M) disminuyó la capacidad de las duplas para secretar los sustratos fluorescentes de Bsep (colil-lisil-fluoresceína) y de Mrp2 (glutacion-metil-fluoresceína). BNC (17 μ M) previno esta disfunción en un 70% ($p < 0,05$; $n=4$), cualquiera sea el sustrato utilizado. Inmunomarcado de Bsep y Mrp2 seguido de microscopía confocal y análisis de imagen revelaron que tBOOH (100 μ M) indujo internalización de estos transportadores, y que el pre-tratamiento con BNC (17 μ M) previno significativamente estas alteraciones. Se indagó la capacidad de BNC para prevenir la desorganización de actina, evaluada mediante la formación de ampollas ("blebs") de membrana plasmática (por contraste de fase) y por la redistribución de actina marcada con faloidina-Cy3 (por microscopía confocal y análisis de imagen). BNC redujo el aumento de duplas exhibiendo "blebs" inducido por tBOOH ($67,8 \pm 1,1$ vs. $30,0 \pm 1,5$ %; $p < 0,05$). Asimismo, BNC previno la redistribución de actina en un 50%. Concluimos que BNC previene la disfunción secretora biliar inducida por EO, al prevenir la desorganización de actina y la consecuente internalización de transportadores canaliculares relevantes para la secreción biliar.

Resumen #18: Modulación por proteína quinasas activadas por mitógeno (MAPKs) del estrés oxidativo (EO) y la alteración de la función secretora hepatocanalicular inducida por tert-butilhidroperóxido (tBOOH). Toledo FD, Basiglio CL, Boaglio AC, Barosso IR, Zucchetti AE, Sánchez Pozzi EJ, Roma MG. Instituto de Fisiología Experimental (IFISE-CONICET). Facultad de Cs Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. fla.toledo@gmail.com

En estudios previos en duplas aisladas de hepatocitos de rata, demostramos que el tert-butilhidroperóxido (tBOOH), un agente que provoca EO vía formación de poros de transición de permeabilidad mitocondrial, induce alteraciones en la función secretora hepatocanalicular vía internalización endocítica de transportadores canaliculares, y que las MAPKs del tipo ERK 1/2, JNK 1/2 y p38MAPK están involucradas en dicho efecto. En este trabajo, indagamos en el mecanismo de injuria oxidativa mediado por MAPKs, estudiando la participación de las mismas en la generación de EO inducido por tBOOH. La mediación de MAPKs en la alteración secretora hepatobiliar fue además confirmada en el modelo de hígado aislado y perfundido de rata (HAPR), el cual conserva la integridad fisiológica epitelial. Para estudiar la influencia de las MAPKs en la generación de EO inducido por tBOOH, se trataron hepatocitos de rata en cultivo primario con tBOOH (100 μ M) durante 15 min, preincubados (o no) durante 15 min con inhibidores específicos de MAPKs del tipo ERK 1/2 (PD098059 -PD-, 5mM), JNK 1/2 (SP600125 -SP-, 1 μ M) o p38MAPK (SB203580 -SB-, 1 μ M). El EO se evaluó midiendo la a) lipoperoxidación de membranas (LPO), mediante la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y b) la formación intracelular de especies reactivas del oxígeno (ROS), utilizando el fluoróforo redox 2',7'-diclorofluoresceína. Todos los inhibidores de MAPKs previnieron significativamente la LPO y la formación de ROS inducidas por tBOOH. En el modelo de HAPR, la perfusión con tBOOH (75 μ M, 10 min) redujo significativamente el flujo biliar (-73 \pm 13%, $p < 0.001$), mientras que la perfusión previa con los diferentes inhibidores de MAPKs previno significativamente esta caída: PD (5 μ M; +55 \pm 18%; $p < 0.001$), SP (1 μ M; +47 \pm 23%; $p < 0.001$) y SB (250 nM; +45 \pm 16%; $p < 0.001$). Se evaluó además la mediación de MAPKs en el efecto deletéreo de tBOOH sobre la función secretora de los transportadores canaliculares Bsep (bomba exportadora de sales biliares) y Mrp2 (proteína asociada a la resistencia a multidroga 2), responsables de la formación de bilis dependiente e independiente de sales biliares. Para ello, se monitoreó la excreción biliar del sustrato de Bsep taurocolato (TC) y del sustrato de Mrp2 dinitrofenilglutacion (DNP-SG), generado dentro del hepatocito a partir de su precursor 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno (CDNB) administrado exógenamente. La perfusión con tBOOH (75 μ M, 10 min) redujo significativamente la excreción de TC (-64 \pm 14%, $p < 0.001$) y de DNP-SG (-60 \pm 9%, $p < 0.001$), mientras que la pre-perfusión con los inhibidores de MAPKs PD (5 μ M), SP (1 μ M) y SB (250 nM) logró prevenir esta disminución, independiente del sustrato analizado. Concluimos que las MAPKs de tipo p38MAPK, ERK 1/2 y JNK 1/2 participan parcialmente en las alteraciones de la función secretora biliar inducidas por tBOOH, previniendo la generación de ROS y la consecuente inhibición de la función de transporte responsable de la generación de bilis.

Resumen #27: Diazepam induce un aumento en la proliferación hepatocelular en un modelo de hepatectomía parcial en ratas. Quiroga MV (1), Pagotto MA (1), Lugano MC (2), Zucchetti A (3), Pisani GB (2), Trumper L (1,4), Monasterolo LA (1,5). (1) Área Farmacología, (2) Área Morfología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. (3) Instituto de Fisiología Experimental, CONICET. (4) Consejo de Investigaciones, UNR. (5) CONICET. imonaste@fbiof.unr.edu.ar

La proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) es una proteína de membrana mitocondrial que se encuentra involucrada en distintas funciones biológicas, incluyendo esteroidogénesis, actividad de canales de calcio,

respuesta inmune, transporte de porfirina y proliferación celular. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión y posible participación de TSPO en la regeneración hepática post-hepatectomía. Se practicó la resección de 2/3 de la masa hepática, según la técnica de Higgins y Anderson, como modelo de hepatectomía parcial (HP), utilizando como control la correspondiente cirugía simulada (SHAM), en ratas Wistar macho adultas. Los animales recibieron una dosis/día del ligando de TSPO, diazepam (DZ), 3mg/Kg i.p. o su vehículo durante 3 días consecutivos. Al tercer día de tratamiento se practicó HP, y luego de 24 hs se realizaron los siguientes experimentos. Se extrajeron los hígados para: 1) evaluar la expresión de ARNm de TSPO, coamplificando GAPDH, por técnicas de RT-PCR; y 2) cuantificar la proliferación celular por inmunotinción para el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA). En un grupo de animales se midieron el flujo biliar y la excreción de bilirrubina y sales biliares. Los resultados se expresaron como promedio \pm SEM de 3-5 observaciones. Las diferencias entre medias se analizaron por el test de Newman-Keuls. En las ratas HP se encontró un aumento en la expresión hepática de ARNm de TSPO comparado con el grupo SHAM, que se previno con el tratamiento con DZ (TSPO/GAPDH, unidades arbitrarias: SHAM= 0.57 \pm 0.01; HP= 0.98 \pm 0.07**; SHAM+DZ= 0.53 \pm 0.04###; HP+DZ=0.50 \pm 0.03###; ** $p < 0.01$ vs. SHAM; ### $p < 0.01$ vs. HP). En el grupo HP se observó un aumento en el porcentaje de hepatocitos en fase S respecto al grupo SHAM; y el valor estimado para los animales HP que recibieron DZ se encontró significativamente aumentado respecto al grupo HP que no fue tratado (SHAM= 0.20 \pm 0.03; HP= 3.45 \pm 0.10**; SHAM+DZ= 0.25 \pm 0.03; HP+DZ= 5.60 \pm 0.35***; ** $p < 0.01$ vs. SHAM; ### $p < 0.01$ vs. HP). Estas diferencias estadísticas también se pusieron en evidencia cuando se analizó la totalidad de las fases activas del ciclo celular. El flujo y la excreción biliar de bilirrubina y sales biliares, referidos a la masa hepática remanente, se encontraron aumentados en HP respecto a SHAM. Los valores promedio de estos parámetros funcionales calculados para HP no se modificaron por la administración de DZ. Estos resultados indican que durante la activación de mecanismos involucrados en la regeneración post-HP se incrementa la expresión de ARNm de TSPO. El pretratamiento con DZ se asocia con la prevención del aumento del mensajero (probablemente por regulación en menos debido al estímulo con el ligando) y con una mayor activación del ciclo celular. Esto sugiere un posible rol modulador para TSPO en la proliferación de hepatocitos post-HP.

METABOLISMO

Resumen #22: Efecto del ácido zoledrónico sobre el cartilago de crecimiento y el hueso esponjoso primario de ratas ovariectomizadas. Bues F, Lombarte M, Di Loreto V. Laboratorio de Biología Ósea. Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Médicas. UNR. vediloreto@yahoo.com.ar

El crecimiento de los huesos largos ocurre asociado al disco epifisario de crecimiento, donde un resto de tejido cartilaginoso es reemplazado por hueso esponjoso primario. Este proceso de osificación endocondral es afectado por factores biológicos, entre ellos los estrógenos, y agentes químicos sistémicos. El ácido zoledrónico (AZ) es una droga antirresortiva utilizada en la práctica clínica para tratamiento de distintas enfermedades óseas en pacientes adultos y pediátricos. Este bisfosfonato interfiere con la acción de los osteoclastos, los cuales están involucrados en la resorción del cartilago calcificado y del hueso esponjoso primario y secundario. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con AZ sobre las características histológicas del disco epifisario y del hueso subcondral de tibias de ratas ovariectomizadas. 16 ratas Sprague Dawley hembra de 70 días fueron sometidas a ovariectomía (OVX) bilateral. 8 ratas fueron sometidas a cirugía simulada (sham). Luego de 30 días, las ratas OVX se dividieron en 2 grupos que recibieron

AZ: 0.15µg/100g.semana (grupo AZ) o vehículo (grupo OVX). Luego de un mes de tratamiento se practicó la eutanasia de los animales, se obtuvieron las tibias, se fijaron en formol-PBS, se descalcificaron con EDTA y se embebieron en parafina. Se realizaron cortes longitudinales de 5µm de espesor y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Se analizaron las características histopatológicas del hueso primario y se determinó el % de volumen óseo trabecular (%BV/TV). A nivel del disco epifisiario se midieron el ancho total y de las capas proliferativa e hipertrófica. Los resultados se expresan como media±ES. Los datos se analizaron con el test de ANOVA y post test de Bonferroni. Las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0.05$ (*). El análisis histopatológico en el grupo sham mostró trabéculas (Tb) con disposición y conectividad normales. El grupo OVX presentó una menor cantidad de Tb con menor conectividad. En el grupo OVX tratado con AZ se observaron Tb desorganizadas, anastomosadas entre sí y con grandes remanentes de cartilago calcificado. Además, en este grupo se observaron osteoclastos de gran tamaño, gran cantidad de núcleos y morfología anormal. El estudio histomorfométrico muestra una disminución del %BV/TV en ratas OVX el cual se revirtió y superó el valor de los sham por acción del AZ (Sham: 40.1±4.16%, OVX: 23.8±3.84*, AZ: 62.7±2.07*). El ancho del disco epifisiario no mostró diferencias entre los grupos aunque la proporción de la capa proliferante fue mayor en el grupo AZ (sham: 35,4±1.18%, OVX: 32.1±2.30, AZ: 39.7±2.12*) lo cual representa un 27% de aumento respecto al grupo OVX. Los resultados indican que el AZ alteraría el proceso de osificación endocondral en ratas OVX aumentando la proliferación de condrocitos y retrasando la resorción del cartilago calcificado lo cual lleva a la formación de hueso primario muy voluminoso y de características histológicas anormales.

Resumen #33: Interacción entre SIRT1 y PPARα en preneoplasia hepática. Casella ML, Ceballos MP, Parody JP, Carrillo MC, Alvarez ML. Instituto de Fisiología Experimental (IFISE-CONICET)/ Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. alvarez@ifise-conicet.gov.ar

Las sirtuinas (SIRT) son proteínas deacetilasas NAD⁺-dependientes. En mamíferos hay siete SIRT (SIRT 1 a 7), las que presentan un rol crítico en diferentes procesos biológicos, como regulación de la expresión génica, del metabolismo, de apoptosis y supervivencia celular, e inflamación. Con respecto al cáncer, SIRT1 parece desempeñar un rol contradictorio, ya que diversos estudios le adjudican tanto propiedades supresoras como promotoras tumorales. El receptor activado por proliferadores peroxisomales α (PPARα) es un factor de transcripción que media la respuesta a los cambios en la disponibilidad sistémica de combustible metabólico y además es un regulador clave del crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis. Se ha demostrado que SIRT1 interactúa con PPARα para regular el metabolismo hepático de lípidos. Esta interacción también ha sido descrita en la patogénesis de enfermedades cardíacas; sin embargo, aún no hay estudios que la vinculen al desarrollo de cáncer. Al respecto, nuestro grupo ha demostrado en ratas que durante la preneoplasia hepática (etapa temprana del desarrollo tumoral) los niveles de PPARα están aumentados con respecto a animales controles no tratados. Además, el tratamiento con quercetina (inhibidor de PPARα) conduce a un menor desarrollo de lesiones preneoplásicas. Nos proponemos analizar el papel de SIRT1 en el desarrollo de la carcinogénesis hepática y su relación con PPARα. Ratas Wistar macho adultas fueron divididas en 3 grupos: control (C), con preneoplasia hepática o iniciadas-promovidas (IP) y animales IP tratados con quercetina 20 mg/kg (Q20). Para determinar el nivel de SIRT1 en preneoplasia hepática, se compararon lisados totales de los grupos C e IP por Western blot, observando un aumento de SIRT1 (+75%*) en los animales IP. Además, confirmamos que PPARα se encuentra disminuido (-48%*) en Q20 con respecto a IP. El análisis de los

niveles de SIRT1 en el grupo Q20 mostró un aumento de la proteína (+95%*) con respecto a animales IP (* $p < 0.05$). Para establecer si en preneoplasia hepática se produce la interacción entre SIRT1 y PPARα, se realizaron estudios de inmunoprecipitación en extractos nucleares. Los mismos mostraron que dichas proteínas se asocian entre sí en preneoplasia (grupo IP) y que el tratamiento con quercetina disminuye el grado de interacción. En conclusión, podemos postular que durante la preneoplasia hepática hay sobre-expresión tanto de PPARα como de SIRT1, siendo capaces de interactuar entre sí. El tratamiento con un inhibidor de PPARα produce un aumento en los niveles de SIRT1, con disminución de la asociación entre ambas, debido a la menor disponibilidad de PPARα. Estos cambios proteicos y de interacción podrían estar modulando vías clave en etapas tempranas del desarrollo tumoral hepático. Es importante la profundización de estos estudios, para establecer posibles blancos terapéuticos en la prevención o tratamiento del cáncer hepático.

Resumen #37: Comparación de los efectos del hierro y el alcohol sobre el estrés oxidativo en ratones. García BN, Roque ME. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. mroque@uns.edu.ar

Los estudios del efecto tóxico del Fe como inductor de estrés oxidativo han avanzado en la última década. Factores oxidantes diferentes al Fe han sido postulados como agentes etiológicos de la alteración del metabolismo del hierro y de la injuria celular. El objetivo de nuestro estudio fue desarrollar y optimizar Modelos Animales de Estrés Oxidativo inducidos por alcohol y por hierro para evaluar los efectos sobre el hierro (tisular y sérico) y sobre la estructura hepática y esplénica. Ratones CF1 (27±3g) se agruparon en: 1) Estrés Oxidativo inducido por Fe (EOx-Fe)(n=9): dosis i.p. de Fe sacarato (3000 mg/Kg de peso corporal; 500 µl/48 hs/18 días). Grupo control (n=9): dosis i.p. de solución fisiológica (500µl/48 hs/18 días); 2) Estrés Oxidativo inducido por alcohol (EOx - alcohol)(n=18): alcohol 20% en solución acuosa (ad libitum /28 días). Grupo control (n=18): solución acuosa (ad libitum /28 días). Estado del hierro: Sérico (colorimetría); Tisular: colorimetría, previa digestión ácida, Tinción de Perl's. Dosaje de TBARS (535 nm). Hematología: Hb (cianometahemoglobina), HCT. Análisis Estadístico: t-student ($p \leq 0.05$). Indicadores de Estrés Oxidativo: Los TBARS séricos mostraron un incremento significativo en el modelo de EOx-alcohol (2.4 ± 0.6 µmol/ L vs 1.8 ± 0.5 µmol/ L) y en el modelo EOx-Fe, (2.3 ± 0.6 µmol/ L vs 1.7 ± 0.5 µmol/ L). En el hígado del grupo EOx-Fe los TBARS aumentaron significativamente (3.8 ± 0.25 nmol/mg proteínas vs 0.24 ± 0.06 nmol/mg proteínas.) a diferencia de los TBARS del grupo EOx-alcohol, donde no se observaron cambios, respecto al control. Fe sérico: La Ferremia del modelo de EOx-alcohol disminuyó significativamente respecto al control (225 ± 36 µg/dl vs 284 ± 41 µg/dl) mientras que aumentó significativamente (477 ± 108 µg/dl vs 263 ± 49 µg/dl) en el modelo EOx-Fe, respecto al control. Fe tisular: El Fe hepático del modelo de EOx-alcohol, mostró un aumento significativo (30%) respecto al control (2.6 ± 0.7 µmol/gr de tej vs 1.9 ± 0.3 µmol/gr) siendo éste aumento más pronunciado en el modelo EOx-Fe (36.6 ± 12.2 µmol/gr de tej vs 1.18 ± 0.35 µmol/gr de tej). La histología esplénica mostró una notable disminución de hemosiderina por tinción de Perl's en el grupo EOx-alcohol, no mostrando cambios en hígado (respecto a los controles). En el modelo EOx-Fe se observó un aumento esperable de hemosiderina esplénica asociado a alteraciones estructurales del órgano, sin cambios evidentes en el grupo EOx-alcohol. Los indicadores de estrés oxidativo estudiados en los modelos de alcohol y hierro, sustentarían los cambios observados en la distribución del hierro. Un aspecto novedoso de nuestro estudio fue la marcada depleción esplénica del hierro y su movilización hacia el hígado por efecto del alcohol, no observada en el modelo de hierro. Estos cambios reflejarían una diferente regulación en la distribución del hierro en función del estímulo inductor de estrés oxidativo.

Resumen #38: Función pulmonar en el ciclo del hierro en un modelo experimental de estrés oxidativo. Giorgi G, Roque ME. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. mroque@uns.edu.ar

El transportador de metales divalentes DMT1 y la Ferritina regulan la captación celular y el depósito de hierro, protegiendo a los tejidos del daño oxidativo inducido por este biometal. La reciente identificación de DMT1 y Ferritina en células bronquio-alveolares y en macrófagos pulmonares ha planteado el interrogante sobre la función del pulmón en el ciclo del hierro. El objetivo fue evaluar la localización y expresión de DMT1 y Ferritina en células del epitelio pulmonar e intestinal, en un modelo de estrés oxidativo inducido por hierro. Ratonas hembras CF1 (n=9/grupo, diseño pareado) se dividieron en 2 grupos: 1) Estrés Oxidativo inducido por hierro: inyecciones ip Fe-Sacarato, cada 48 hs/ 18 días (3g/Kg peso); 2) Control: inyecciones ip. Solución Fisiológica. Mediciones (día 20): Fe-tisular: cuantificación previa digestión ácida, TBARS séricos, t-student p<0,05. Inmunohistoquímica: pulmón/intestino, anti-DMT1/anti-Ferritina, anti-rabbit (HRP). Evaluación del Fe en forma de hemosiderina: Tinción de Perl's. Los TBARS séricos aumentaron significativamente en estrés oxidativo inducido por hierro (2,4±0,6 µmol/l), respecto al control (1,7±0,5 µmol/l). Se observó un aumento significativo del hierro pulmonar en ratones con estrés oxidativo (23,3±7,7 µmol/g), respecto al control (0,7±0,2 µmol/g). En exceso de hierro en células bronquiales, DMT1 se expresó en la membrana apical y Ferritina se localizó en cercanías de dicha membrana, a diferencia de la condición basal donde ambas se expresan en el interior celular. En células alveolares y en macrófagos pulmonares, fue evidente la expresión citoplasmática de DMT1, en estrés oxidativo y en la condición basal. En macrófagos pulmonares en exceso de hierro, se observó una marcada expresión de Ferritina asociada a hemosiderina. En enterocitos fue evidente la localización perinuclear en el modelo de estrés oxidativo, mientras que fue citoplasmática en la condición basal. La diferente localización de DMT1 de células del epitelio respiratorio respecto a enterocitos sugeriría que el "exceso de hierro" en pulmón, ejercería una señal "tejido específica". A partir de la movilización de DMT1 hacia la membrana apical de células bronquiales se le puede adjudicar un rol específico como importador del hierro en exceso, siendo sostenido por la localización apical de Ferritina. Los macrófagos pulmonares, al igual que en otros tejidos, cumplirían un rol fundamental en el depósito de hierro en exceso. Finalmente, DMT1 y Ferritina de pulmón tendrían una función destoxicificante del hierro en estrés oxidativo inducido por hierro.

Resumen #39: Regulación del ciclo del hierro en estrés oxidativo mediado por DMT1 pancreática y ferritina. Giorgi G, Roque ME. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. mroque@uns.edu.ar

La expresión del importador de hierro DMT1 en tejidos glandulares como el páncreas ha concitado el interés de estudiar su rol funcional y regulatorio en las células beta de los Islotes de Langerhans. Se ha postulado que el ingreso de hierro mediado por DMT1 a las células beta podría ser el factor etiológico que relaciona la diabetes con la hemocromatosis, debido al daño celular inducido por el estrés oxidativo dependiente del Fe. Con el objetivo de estudiar el ciclo del hierro en el páncreas se evaluó la expresión de DMT1 y Ferritina en un modelo animal de estrés oxidativo inducido por hierro. Ratonas hembras CF1 (n=9/grupo, diseño pareado) se dividieron en 2 grupos: 1) Estrés Oxidativo inducido por exceso de hierro: inyecciones ip Fe-Sacarato, cada 48 hs/ 18 días (3g/Kg peso); 2) Control: inyecciones ip Solución Fisiológica. Mediciones (día 20): Fe-tisular: cuantificación previa digestión ácida, TBARS séricos, t-student p<0.05. Inmunohistoquímica de páncreas: anti-DMT1/anti-Ferritina; anti-rabbit (HRP). Evaluación del Fe en forma de hemosiderina: Tinción de Perl's. Los TBARS séricos aumentaron significativamente en estrés oxidativo inducido por hierro (2,4±0,6 µmol/l), respecto al control (1,7±0,5 µmol/l).

Se observó un aumento significativo del hierro pancreático en estrés oxidativo (105,3±32,1 µmol/g), respecto al control (0,3±0,2 µmol/g). En el páncreas, en condición basal, la expresión de Ferritina y DMT1 fue marcada en células del Islote de Langerhans. Sin embargo, en exceso de hierro, la expresión de ambas proteínas en estas células endócrinas fue menos evidente. Así mismo, en las células de tejido conectivo interacinar se observó expresión de Ferritina en exceso de hierro. En estrés oxidativo, hemosiderina se localizó en las células de tejido conectivo interacinar, a diferencia de la condición basal donde no se observó hemosiderina pancreática. Podemos concluir que los cambios de expresión de DMT1 y de Ferritina en células del Islote de Langerhans sugiere que en estados de exceso de hierro, disminuiría el ingreso de este metal a las células endócrinas protegiéndolas del daño oxidativo. Además, la localización del hierro en exceso en células del tejido conectivo interacinar, indicaría que estas células son el sitio predominante de depósito del hierro contribuyendo con la protección del páncreas endocrino. Finalmente nuestros resultados aportarían evidencias que DMT1 y Ferritina pancreática actuarían en el control de la captación y depósito de hierro en coordinación regulatoria con otros órganos.

Resumen #41: Regulación de la supervivencia ante estrés nutricional en células HepG2: participación de las quinasas AMPK y PKA. Ferretti AC, Mattaloni SM, Tonucci F, Larocca MC, Favre C. Instituto de Fisiología Experimental, CONICET, Universidad de Rosario, Argentina. cfavre@unr.edu.ar

AMPK es clave en la adaptación al estrés energético. Las células tumorales realizan glucólisis anaeróbica a alta tasa y son muy dependientes de los niveles de glucosa, por lo que esta vía cobra un interés central. AMPK tiene roles opuestos en la proliferación y la muerte celular: en algunos contextos promueve apoptosis y/o arresto de la proliferación, y en otros favorece la supervivencia. PKA y AMPK regulan algunos puntos comunes del metabolismo. AMPK es inhibida por PKA en distintos tejidos, aunque no se han analizado estos efectos regulatorios en el control del crecimiento tumoral. Previamente demostramos que en hepatocitos la falta de glucosa induce apoptosis por un mecanismo PKA dependiente. En este trabajo analizamos los cambios en la supervivencia en células de hepatocarcinoma HepG2 ante restricción de glucosa, así como su modulación por AMPK y PKA y evaluamos la posible interacción entre ambas vías en la muerte/proliferación durante este estrés energético. Células HepG2 fueron incubadas en presencia (C) y ausencia de glucosa (Glc0) con o sin el activador de AMPK AICAR y con o sin el activador de PKA dbAMPc. En primer lugar se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo de MTT a distintos tiempos. La falta de glucosa indujo una disminución significativa de la viabilidad a partir de las 12 h que se mantuvo hasta las 36 h (C a t=0: 100 %; Glc0 a t=36 h: 125,3±7,0 %* vs C a t=36 h: 196,7±6,5 %). AICAR produjo pérdida significativa de la viabilidad a partir de las 36 h y potenció significativamente la disminución de la viabilidad durante la ausencia de glucosa a este tiempo (AICAR glc0: 93,2±3,8 %* vs Glc0 t= 36 h). Por otro lado, la activación de PKA no tuvo efecto sobre el número total de células viables. En segundo lugar, se determinó si la pérdida de viabilidad en cada caso se debía a muerte apoptótica y/o arresto de la proliferación. Para ello se analizó por citometría la población de células apoptóticas con Annexin V-FITC y se cuantificó la expresión de citocromo c en citosol y de los inhibidores del ciclo celular p53 y p21. La expresión de citocromo c aumentó significativamente en todos los grupos, siendo el máximo aumento en AICAR glc0: 426,4±69,5 %* y dbAMPc AICAR glc0: 428,4±166,4 %* vs C: 100 %. Los niveles de p53 y p21 tendieron a aumentar ante la falta de glucosa, mientras que sólo existió un aumento significativo ante la activación de AMPK con AICAR o de PKA con dbAMPc, observándose que la combinación de ambos previno estos aumentos en presencia o ausencia de glucosa, registrándose valores de p21 de 197,3±74,2 %*; 164,7±30,4 %*;

104,6±28,1 % y 69±12,3 % vs C: 100 %, para AICAR, AICAR glc0, dbAMPc AICAR y dbAMPc AICAR glc0, respectivamente. Los resultados indican que la falta de glucosa en HepG2 involucra distintas vías de quinasas que regulan diferencialmente la muerte y la proliferación y que existiría una interregulación entre AMPK y PKA controlando la expresión de proteínas claves para el arresto del ciclo celular.*p<0,05

Resumen #55: Perfil lipídico y composición de ácidos grasos plasmáticos en ratas sometidas a diferentes períodos de estrés crónico. Scoppa HG, Bensi N, García M, Binotti S, Gauna HF, Nieblyski AM. Fisiología Animal, Fac. Cs Exactas Físico-Qcas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto. Cba. aniebylski@exa.unrc.edu.ar

El ajuste del organismo al incremento de la demanda de energía en situaciones de estrés produce alteraciones metabólicas que pueden ser la causa de diversas enfermedades, tales como diabetes, dislipidemias y enfermedades cardiovasculares, entre otras. Además, es conocido que los efectos del estrés dependen de la naturaleza del estímulo, la intensidad, la duración y la posibilidad de resolver la situación de manera adecuada. El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios en el perfil lipídico y la composición de ácidos grasos plasmáticos en ratas sometidas a estrés agudo y a diferentes períodos de estrés crónico. Se utilizaron ratas Wistar macho adultas, divididas en dos grupos experimentales: grupo control (no estresadas) y grupo IMO (estrés por inmovilización en plancha, 2 h/día, 3 veces por semana, durante 180 días), protocolo avalado por el comité de bioética de la UNRC. Los días 1, 7 y 180 de estrés, luego de la sesión de IMO, se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales para la determinación de corticosterona (CORT), colesterol total (CT), triacilglicéridos (TAG), colesterol-HDL (C-HDL), colesterol-LDL (C-LDL), Apo B, Lp(a) y ácidos grasos plasmáticos (AG). Se consideró estadísticamente significativa p< 0,05. Los animales IMO mostraron niveles incrementados de CORT en todos los tiempos estudiados. Con respecto a los lípidos, se observó un incremento progresivo en los niveles plasmáticos de CT (del 18 al 56 %), C-HDL (del 11 al 39 %), C-LDL (del 9 al 58 %), TAG (del 64 al 91 %), Apo B (del 27 al 62 %) y Lp (a) (del 20% al 65%) en los animales estresados respecto a sus controles a medida que se incrementan las sesiones de IMO. Los AG plasmáticos no mostraron diferencias en respuesta a estrés agudo. En el día 7, se observó un aumento del ácido mirístico (83 %), palmitoleico (77 %) y araquidónico (47 %) en los animales estresados, respecto de sus controles. En el día 180, la IMO incrementó los niveles de ácido oleico (65 %), palmitoleico (294 %) y disminuyó los niveles de ácido araquidónico (31 %), linoleico (37 %) y linoléico (31 %). El aumento progresivo de los valores lipídicos a medida que se incrementan las sesiones de IMO, indican una mayor reactividad al estrés, lo que coincide con un aumento en los parámetros aterogénicos (ApoB y Lp(a)). Por otro lado, el estrés interfiere con la biosíntesis y composición de los AG del plasma de manera diferente según la cantidad de exposiciones al mismo. Los cambios observados en respuesta al estrés podrían predisponer a dislipidemias, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, siendo los efectos mas notorios cuando el estrés se mantiene por un tiempo prolongado, a pesar de que los animales tienen acceso a una dieta estándar, baja en lípidos.

NERVIOSO

Resumen #32: Regulación de la tirosina hidroxilasa por las endotelinas 1 y 3 en los bulbos olfatorios de rata: papel de la vía de las MAPK. Giannoni F¹, Guil MJ¹, Morales VP¹, Hope SI¹, Nabhen S¹, Bianciotti LG², Vatta MS¹. ¹Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. IQUIMEFA-CONICET. ²Cátedra de Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. INIGEM-CONICET. mvatta@ffyba.uba.ar

Las endotelinas (ETs) son una familia de péptidos que actúan como neuromoduladores en diferentes regiones y áreas del sistema nervioso central, incluyendo los bulbos olfatorios (BO). Estos están relacionados con diversas funciones biológicas, entre ellas la fisiología cardiovascular, involucrando diferentes neurotransmisores, entre ellos las catecolaminas. Diversas áreas de los BO expresan Tirosina Hidroxilasa (TH) que es la enzima que regula el paso limitante en la biosíntesis de las catecolaminas y que se encuentra complejamente regulada. En trabajos previos demostramos que las ETs incrementan la actividad de TH mediante el aumento en la expresión total de la enzima, de la fosforilación de la misma y de su mRNA, implicando la acción de diferentes mecanismos intracelulares. Diversos autores demostraron que las ERK1/2 modulan la fosforilación de la TH en la Ser 31 y 40, sitios que son activados por las ETs. Sobre esta base, nos propusimos estudiar si estos péptidos modulan la TH en los BO a través de la vía de las MAPK. Así determinamos previamente que la ET-1 y -3 incrementan la expresión tanto de las ERK1/2 totales como fosforiladas. Además, demostramos que estaban implicadas en el aumento de los niveles del mRNA-TH producido por las ET-1 y -3. Con el objetivo de continuar estas investigaciones nos propusimos determinar si las ERK1/2 participan en el incremento de la actividad y expresión de la TH total y de sus formas fosforiladas (Ser 31 y 40) inducidas por las ETs en los BO. Los resultados muestran que la inhibición de las ERK1/2 con PD98059 disminuyen el incremento de la actividad de TH producido tanto por la ET-1 como por la ET-3. Por otra parte, observamos que la inhibición de ERK1/2 disminuyó los niveles de fosforilación en los residuos Ser 31 y 40 producido por las ETs, sin embargo no modificó el incremento de expresión de TH Total inducido por estos péptidos. Tanto los resultados previos como los obtenidos en el presente trabajo demuestran que en los BO de rata, la vía de las MAPK participa en el incremento producido por las ETs sobre la expresión del mRNA-TH y de los niveles de fosforilación de la enzima como de su actividad. Sin embargo, la divergencia entre los datos observados a nivel del mRNA y la proteína total podría deberse a diversas razones, entre las cuáles se encuentran: - el aumento en la estabilidad y/o traducción del mRNA; - la disminución en la degradación de la enzima; y/o - que las proteínas que activan las ERKs median principalmente la regulación transcripcional y la traducción y estabilidad del mRNA, lo que sugiere que su acción podría ejercerse a nivel de la estabilidad del mRNA de TH o de su tasa de traducción y no al incremento de los niveles de proteína TH Total. Por lo tanto, los hallazgos del presente trabajo indican que la vía de las MAPK mediaría la regulación de la actividad catecolaminérgica mediado por las ETs, participando en diversas funciones que involucran a los BO.

Resumen #43: Apetito por el sodio: ¿Porqué no se desarrolla inmediatamente después de la depleción de sodio corporal? Godino A, Caeiro X, Vivas L. Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra (INIMEC-CONICET-UNC). agodino@immf.uncor.edu

El apetito por el sodio (AS), en contraste a la sed, no se desarrolla inmediatamente luego de la depleción de sodio (DS) e incluso aparece cuando la volemia y la natremia se han restablecido mediante los reservorios corporales de sodio. Nuestros estudios demostraron que la DS por diálisis peritoneal (DP) produce una rápida caída en la concentración de Na del suero y del fluido cerebrospinal entre 1-4hs después de la DP; aumentando lentamente hasta las 20 hs cuando los animales no sólo recuperan la concentración de Na extracelular normal sino que además el AS se vuelve evidente. Además investigamos las áreas y sistemas neuroquímicos involucrados tanto en la fase apetitiva (24hs después de la DP) como en la fase de saciedad del AS (luego del consumo inducido por DP). En estos estudios la DS incrementó la actividad neuronal (inmunoreactividad a Fos (ir-Fos)), en los órganos circunventriculares de la lamina terminalis: órgano subfornical (SFO) y órgano vasculoso de la lamina terminalis (OVL), y disminuyó ir-Fos de las neuronas serotoninérgicas (5HT)

del núcleo del rafe dorsal (DRN), sugiriendo su participación en la génesis del AS. Durante la fase de saciedad la ir-Fos se incrementó dentro de áreas del tronco encefálico como el núcleo del tracto solitario (NTS), área postrema (AP), núcleo parabraquial lateral (LPBN), neuronas 5HT del DRN y a lo largo de las células oxitocinérgicas (OT) hipotalámicas, indicando su participación en la inhibición del AS. Sin embargo, no se conoce cuáles son las áreas y mecanismos involucrados en la disociación temporal existente entre la DS y la aparición del AS. El objetivo fue analizar la Ir-Fos en las áreas cerebrales 2 hs después de la DP en ratas. Además, combinamos la marcación de Fos con anticuerpos específicos para OT y 5HT. Con el objetivo de evaluar la participación hormonal en la disociación temporal, determinamos la concentración plasmática de aldosterona (ALDO) y la actividad de renina plasmática (PRA) a las 2 y 24 hs después de la DP. En los animales 2h DP observamos un incremento en el número de neuronas ir-Fos en el SFO: $p=0,014$ y OVLT $p=0,003$. Contrario a lo que esperamos, no observamos ningún incremento en el número de neuronas Fos-OT positivas. Encontramos un aumento en la Ir-Fos en el AP ($p=0,003$), NTS ($p=0,0003$) y LPBN ($p=0,035$) áreas involucradas en la inhibición del AS. En relación a las neuronas Fos-5HT no observamos diferencias significativas comparadas con el control, sugiriendo que la inhibición tónica del AS se mantiene a las 2h. Además observamos un aumento en la concentración de ALDO ($p<0,001$) y en PRA ($p<0,001$) luego de la DP, pero no hay diferencias entre las 2 y 24hs después de la DP. En base a estos datos es posible postular que esta disociación temporal entre la caída en los niveles de Na plasmáticos y la expresión del AS puede ser debido a la actividad tónica de las neuronas 5HT y a la activación simultánea de áreas involucradas tanto en la génesis como en la inhibición del AS.

Resumen #47: La intoxicación aguda con paraquat induce alteraciones en la bioenergética mitocondrial en cuerpo estriado. Czerniczyniec A, Lanza EM, Bustamante J y Lores Arnaiz S. Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (UBA-CONICET), FFyB, UBA. aczerni@ffyb.uba.ar

Las mitocondrias se definen comúnmente como las centrales energéticas de las células eucarióticas. Un adecuado suministro de energía por la mitocondria es esencial para la excitabilidad y supervivencia neuronales. El paraquat es un herbicida comúnmente utilizado cuya toxicidad parece estar relacionada con la producción de radicales libres del oxígeno y con una crisis energética que conduciría a la muerte neuronal. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la función mitocondrial de corteza cerebral y cuerpo estriado luego de una intoxicación aguda con paraquat. Se administró paraquat (25 mg/Kg i.p.) o salina a ratas hembra SD adultas las cuales fueron sacrificadas 24 hs después de la inyección. El tratamiento con paraquat disminuyó significativamente la actividad de la NADH-citocromo c reductasa (complejos I-III mitocondriales) y de la citocromo oxidasa en un 30% y 17%, respectivamente, en mitocondrias de cuerpo estriado. Asimismo, se observó un aumento en el consumo de oxígeno en el estado 4 del 15% y un incremento de 115% en los niveles de peróxido de hidrógeno en cuerpo estriado. El tratamiento con paraquat induce la depolarización de la membrana mitocondrial en cuerpo estriado. Sin embargo, no se observaron alteraciones en ninguno de estos parámetros en mitocondrias de corteza cerebral. Estos resultados sugieren que el tratamiento con paraquat induce disfunción mitocondrial en cuerpo estriado que podría dar lugar a alteraciones en la bioenergética celular y consecuente muerte neuronal y deterioro cognitivo.

Resumen #65: Los receptores para la neurotensina de alta afinidad pero no los de baja afinidad están involucrados en la inhibición de la Na/K-ATPasa neuronal por el péptido. Gutnisky A, Álvarez Juliá A, López Ordieres MG, Rodríguez de Lores Arnaiz G. Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. E. De Robertis", Facultad de Medicina y Cátedra de Farmacología, Facultad de

Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, 1121-Buenos Aires, Argentina. grodrig@ffyb.uba.ar

La neurotensina es un tridecapéptido que puede actuar como neuromodulador o como neurotransmisor, que se une a un grupo de receptores. Dos de ellos, denominados NTS1 y NTS2, unen a la neurotensina con alta y baja afinidad, respectivamente. A nivel del sistema nervioso central, la neurotensina participa en distintas funciones como la locomoción, la modulación del estrés, el dolor y la analgesia profunda, entre otras. La neurotensina actúa como agonista en todas las vías mediadas por el receptor NTS1. La Na/K-ATPasa es una enzima transmembrana, esencial para el mantenimiento y recuperación de los gradientes iónicos. El agregado de neurotensina in vitro inhibe la actividad de la Na/K-ATPasa de las membranas sinaptosomales, efecto en el que se encontraría involucrado el receptor NTS1. El presente estudio tuvo por objetivo profundizar el conocimiento de la participación de los receptores a la neurotensina en la acción sobre la Na/K-ATPasa. Se emplearon el SR 48692 (Sanofi-Aventis, U.S., Inc.) y la levocabastina, respectivamente antagonistas para los receptores NTS1 y NTS2. Lotes de seis ratas Wistar macho se emplearon para cada experimento. Las ratas se administraron por vía i.p. con 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de SR 48692 resuspendido en vehículo (0,01% Tween 80 en solución fisiológica), o 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de levocabastina (disuelta en solución fisiológica) y las correspondientes soluciones de vehículo. A los treinta minutos, se sacrificaron los animales, las cortezas cerebrales se disecaron, se homogeneizaron y sometieron a centrifugación diferencial y en gradiente para purificar las membranas sinaptosomales. En estas membranas se determinó la actividad de Na/K- y Mg-ATPasas. Los ensayos se realizaron en ausencia y presencia de neurotensina. La actividad basal de Na/K- y Mg-ATPasa en membranas aisladas de ratas inyectadas con vehículo era de 33,7 y 14,8 μmoles de fosfato inorgánico liberado por mg de proteína por hora, respectivamente. La presencia de $3,5 \times 10^{-6}$ M de neurotensina disminuyó aproximadamente 50% la actividad de Na/K-ATPasa en membranas aisladas de ratas inyectadas con vehículo. El efecto inhibitorio de la neurotensina sobre la actividad de Na/K-ATPasa se previno totalmente por la administración del SR 48692 pero no se alteró por la administración de levocabastina. Los resultados representan una nueva evidencia de que la acción del péptido sobre la enzima ocurre a través del receptor NTS1 pero no del receptor NTS2.

RENAL

Resumen #1: Excreción urinaria de sodio alterada e insulino-resistencia en adolescentes obesos con adiposidad abdominal: relación con la hipertensión. M de Jensen A N, López M S, Mir C N, I. de Pianesi M E, Manulak M A, Trigo C. Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales -UNaM. Posadas -Misiones. Hospital Provincial de Pediatría Dr. F. Barreyro. Posadas -Misiones. anoemijensen@hotmail.com

Introducción. En niños al igual que en adultos, se ha demostrado que la mayor grasa abdominal (adiposidad central) se asocia con insulinoresistencia e hiperinsulinemia, alteración del metabolismo del sodio e hipertensión arterial. Objetivo. Evaluar la relación entre la excreción urinaria de sodio, insulinoresistencia e hipertensión arterial con la adiposidad abdominal en adolescentes obesos. Material y métodos. Estudio de tipo transversal que incluyó 180 adolescentes, de ambos sexos, de 10 a 14 años, sin restricción dietaria: 104 obesos con obesidad abdominal (Ob - IMC puntaje $z \geq 2$) y 76 normopesos (C - IMC puntaje z entre -2 y 1) provenientes del Hospital de Pediatría Dr. F. Barreyro - Posadas, Misiones desde agosto de 2010 a agosto de 2011. Se definió obesidad abdominal considerando perímetro de cintura $\geq p90$, hipertensión como presión arterial sistólica y/o diastólica $\geq p95$ y prehipertensión $\geq p90$ y $< p95$ para la edad sexo y talla. La determinación de sodio en orina de 24 h (Nao) se realizó con Electrodo Ion Selectivo. Insulina por quimioluminiscencia de

micropartículas- CMIA. Se utilizó como valor de corte para insulinoresistencia HOMA ≥ 3 . Resultados y discusión. La población obesa presentó 11 % de adolescentes hipertensos y 12 % de prehipertensos con 49 % de insulinoresistentes. El Nao (mEq/Kg/día) fue significativamente menor ($p < 0,001$) en el grupo Ob respecto a los controles: Ob/C: Nao 1,77 (0,38 – 4,97) / 3,25 (0,55 – 7,49) y los niveles de PAS/PAD (mmHg) fueron significativamente mayores ($p < 0,001$): PAS 110 \pm 12 / 99 \pm 13; PAD 68 \pm 10/58 \pm 10. En los obesos se encontró una asociación positiva entre perímetro de cintura y PAS ($r = 0,3402$, $p = 0,0007$), PAD ($r = 0,2018$, $p = 0,0499$), HOMA ($r = 0,3906$, $p = 0,0001$) y negativa con Nao ($r = -0,3185$, $p = 0,0017$). En la obesidad abdominal e insulinoresistencia se produce estimulación de los mecanismos vasoconstrictores-antinatriuréticos con disminución de la actividad de los sistemas vasodilatadores-natriuréticos que contribuyen con una menor excreción urinaria de sodio, uno de los posibles mecanismos para la generación de hipertensión arterial. Conclusión. Los adolescentes obesos con obesidad abdominal e insulinoresistencia presentan una alteración en la excreción urinaria de sodio con riesgo de desarrollo de hipertensión arterial en el transcurso de su vida.

Resumen #34: Efectos renales de una nueva toxina asociada al síndrome urémico hemolítico (SUH). Oltra G (1), Seyahian A (1), Ochoa F (1), Melendi S (1), Araoz A (1), Nacher S (3), Bellusci AD (3), Hermes R (3), Ibarra C (1); Lago NR (2), Zotta E (1). (1) Laboratorio de Fisiopatología. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. UBA; (2) Centro de Patología Experimental y Aplicada. Departamento de Patología. Facultad de medicina. UBA; (3) Laboratorio Central Hospital Frenandez. ezotta2@gmail.com

Introducción: En Argentina, el SUH es la primera causa de falla renal aguda en niños inducido por E. coli O157:H7, productor de toxina Shiga tipo 2 (Stx2). Recientemente se ha informado que otros serotipos como O113:H21, producen además la citotoxina subtilasina (SubAB) de la que aún no se conocen sus efectos. El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos renales de SubAB independientemente de los efectos de Stx2. Métodos: Ratas machos, Sprague Dawley de 200 gramos fueron inoculadas por vía intraperitoneal con 15ug de SubAB, proveniente de la cepa 98NK2, aislada de pacientes con SUH, provista por el Dr.J.Paton (Universidad de Adelaida, Australia). El grupo control se inoculó con el mismo volumen de solución salina. Se realizaron estudios funcionales, histológicos, inmunohistoquímicos y de biología molecular en ambos grupos a 48 horas y 20 días. Resultados: Los animales presentaron proteinuria, alteración en el manejo renal del sodio sin modificación del filtrado glomerular. La histología demostró necrosis tubular a 48 horas, fibrosis glomerular segmentaria y depósitos de inmunocomplejos a nivel subepitelial, especialmente a los 20 días. Los túbulos renales mostraron marcación para SubAB preferentemente a nivel de túbulos distales y asas de Henle, que coincidió con la expresión de TGF beta-1. Conclusión: Nuestros resultados indican que la respuesta tubular a los efectos SubAB se relacionan con un aumento en la expresión de TGF beta 1, que podría estar involucrado en un cambio inmunofenotípico de las células tubulares como previamente describimos para Stx21, pero en sitios diferentes de la nefrona. Además el desarrollo de una glomerulopatía membranosa estaría relacionado con la proteinuria detectada en estos animales a diferencia las ratas inoculadas con Stx2. Ref. 1 Am J Nephrol. 2032 (4):340-346 2010. 2 Int J Nephrol and Renovasc Dis 5: 29-36. 2012

Resumen #36: Síndrome urémico hemolítico: progresión de la lesión renal a la cronicidad. Melendi S (1), Oltra G (1), Seyahian A (1), Araoz (A (1), Ibarra C (1), Lago NR (2), Zotta E (1), Ochoa F(1). (1) Laboratorio de Fisiopatología. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. UBA; (2) Centro de Patología Experimental y Aplicada. Departamento de Patología. Facultad de Medicina. UBA fochoa@inbox.com

Introducción: En la Argentina, el SUH constituye la causa más frecuente de insuficiencia renal aguda en los niños. Es producido por la infección con Escherichia coli productor de toxina Shiga tipo 2 (Stx2). El 30% puede presentar secuelas renales con evolución a la cronicidad. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar factores relacionados con la evolución de la lesión renal a la cronicidad, en un modelo experimental de SUH en ratas. Se evaluaron factores hemodinámicos y mediadores profibróticos como Angiotensina II – TGF- β 1 (Factor de crecimiento transformante beta 1) y protectores como VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular) - eNOS (Oxido nítrico sintasa endotelial). Métodos: Ratas Sprague-Dawley (150-200 g) fueron inyectadas por vía intraperitoneal. El grupo experimental se inoculó con 0,25 mL de sobrenadante de cultivo bacteriano de E-coli recombinante que expresa Stx2 (sStx2) cada 200 g de peso (1,6 ng/g, dosis subletal). El grupo control recibió el mismo volumen de solución salina. Se realizaron estudios funcionales, histológicos, e inmunohistoquímicos a diferentes tiempos luego de la inoculación (1 semana y 3 meses). Resultados: Los estudios funcionales mostraron una disminución del filtrado glomerular a la semana e hiperfiltración a los tres meses. A este tiempo, los animales presentaron microalbuminuria, proteinuria, e histológicamente una glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) y desarrollo de fibrosis túbulo intersticial. Por inmunohistoquímica observamos un aumento de la expresión de TGF- β 1 en corteza a la semana y en médula a los 3 meses, con desarrollo de una transformación epitelio-mesenquimática. La Angiotensina II presentó un aumento de su expresión en túbulos corticales a la semana y periglomerular a los tres meses con respecto al grupo control. eNOS se expresó a nivel citoplasmático a la semana con respecto al grupo control, observándose posteriormente un cambio en el patrón de expresión a los tres meses, con marcación solamente apical. Conclusión: Nuestros resultados indican que además de la transformación epitelio mesenquimática de las células tubulares inducida por el efecto directo de Stx2 en la liberación de TGF- β 1 estarían involucrados en la evolución a la cronicidad efectos hemodinámicos relacionados con un desbalance entre mediadores profibróticos como Angiotensina II – TGF- β 1 y protectores como VEGF - eNOS.

Resumen #42: Modificación de la función renal durante la ingesta prolongada de glutamato monosódico (GMS). Mahieu S, Millen N, Riera L, Contini M del C. Laboratorio de Investigaciones Fisiológicas Experimentales. Facultad Bioquímica y Cs Biológicas. UNL. Santa Fe. smahieu@fbc.unl.edu.ar

El GMS es un aditivo alimentario popular que provoca un sabor único denominado "umami" cuyo consumo se ha incrementado globalmente en los últimos años. L- glutamato es un AA multifuncional, que además de constituir un neurotransmisor excitador a nivel de SNC, actúa a nivel periférico, ya que sus receptores se distribuyen en casi todos los órganos, entre otros el riñón. Nuestro objetivo fue determinar los cambios funcionales renales durante la ingesta prolongada de GMS. Se trabajó con ratas machos adultas distribuidas en dos grupos. El grupo (T) recibió GMS por vía oral con la dieta (3 g/100 g alimento -5 días por semana) y 1 g% en agua de bebida, durante 6 meses. El grupo control (C) recibió CINA en cantidad equimolar con el alimento y agua en la misma frecuencia e igual período. Al completar el tratamiento se estudió la función renal con técnicas convencionales de clearance (inulina y PAH). A continuación se repitieron los clearances con infusión continua de glicina para obtener la capacidad de reserva glomerular. Se examinaron funciones hemodinámicas y tubulares, y se estudió la excreción urinaria de NO_2 + NO_3 y de proteínas. A nivel tisular se analizó el estado oxidativo. Análisis estadístico: t-Student; * $p < 0,05$. En condiciones basales se observó en T un aumento significativo de la velocidad de filtrado glomerular (VFG, ml/min.g riñón): C 0,65 \pm 0,01; T 0,84 \pm 0,06 * sin cambios en el Clearance de PAH y con aumento de la fracción de filtración (%): C 22 \pm 0,9; T 27 \pm 1*. Esto fue acompañado de un incremento en la reabsorción tubular de agua y sodio. La infusión exógena de glicina aumentó tanto la VFG como

el CIPAH en la misma proporción en ambos grupos. Además, la glicina incrementó la excreción de agua y sodio en ambos grupos, siendo este efecto significativamente menor en T, respecto a los controles. Las ratas T disminuyeron significativamente la excreción de $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ (nmol/12 h): C $1558 \pm 5,2$; T $1014 \pm 6,7^*$, no observándose variaciones en la de proteínas. En relación al estado oxidativo, GMS afectó el ciclo del glutatión con disminución significativa tanto de GSH ($\mu\text{mol/g tej. húmedo}$): C $1,84 \pm 0,15$; T $1,32 \pm 0,03^*$, como de GSSG ($\mu\text{mol/g tej. húmedo}$): C $0,13 \pm 0,024$; T $0,082 \pm 0,008^*$ y de la actividad de las enzimas vinculadas al mismo (GPx y GR). Se concluye que la administración prolongada de GMS podría estar influyendo sobre la función renal operando a través de los receptores de L-glutamato ubicados en glomérulo y en túbulo proximal, lo que determinaría tanto el aumento de la VFG como de la reabsorción de sodio y agua a nivel tubular. La reducción de la excreción de $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ estaría vinculada a cambios en el estado oxidativo renal, tal como lo indica el desbalance GSH-GSSG, indicador dinámico del estrés oxidativo. El incremento del filtrado glomerular por efecto de la glicina indicaría que GMS no afecta la reserva funcional renal.

Resumen #46: Los transportadores de cationes orgánicos a nivel renal modulan la excreción renal de sodio-dopamina dependiente. Rukavina Mikusic NL, Kouyoumdzian NM, Gorzalczanic S[#], Carranza A[#], Pandolfo M^{*}, Kravetz MC, Fernández BE, Choi MR. Cátedras de Fisiopatología, Farmacología[#] y Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, INFIBIOC, CONICET. marcelinkchoi@yahoo.com.ar

Objetivos: Nuestro objetivo fue demostrar *in vivo* si el bloqueo específico de los transportadores de cationes orgánicos (OCTs) con D-22 y D-24, revierte los efectos natriuréticos y diuréticos de la dopamina (DA) administrada exógenamente.

Métodos: Los experimentos se realizaron *in vivo* en ratas macho Sprague Dawley a las cuales se les infundió por vena femoral solución salina isotónica (control(C)) y las distintas drogas (experimentales) por 2 h. Excepto el grupo control, los demás grupos fueron pretratados con carbidopa (CB) 24 h y 2 h antes del comienzo del experimento vía intraperitoneal (i.p.) (200 $\mu\text{g/kg}$) para inhibir la síntesis endógena de DA. Se determinó diuresis, sodio y creatinina en sangre basal y post-infusión cada 30 minutos. Se registró la presión arterial media (PAM) y frecuencia cardíaca (FC). Se determinó clearance de creatinina (ClCr), excreción fraccional de sodio (FENa %) y excreción urinaria de sodio (uNa.V). Grupos estudiados: C; CB; CB+DA; CB+D-22; CB+DA+D-22; CB+D-24; CB+DA+D-24. **Resultados:** La inhibición de la síntesis endógena de DA con carbidopa (CB: 200 $\mu\text{g/kg}$ i.p.) disminuyó a los 90 y 120 min., la diuresis (24% y 20%), FENa (30% y 26%) y uNa.V (26% y 22%) vs grupo control (C). La dosis umbral de DA que aumentó significativamente la diuresis, FENa y uNa.V, sin alterar el ClCr, fue de 100 $\mu\text{g/kg/h}$. Los bloqueantes específicos de los OCTs (D-22 y D-24: 10 $\mu\text{g/kg/h}$) inhibieron los efectos de la DA sobre la diuresis y natriuresis. No se registraron cambios en la PAM ni FC, excepto el grupo CB+DA+D-24 que registró un aumento de la PAM y la FC con respecto al grupo CB+DA, a los 90 (90 ± 5 vs 68 ± 4 mmHg; 400 ± 10 vs 364 ± 13 lat/min) y 120 minutos (86 ± 6 vs 68 ± 4 mmHg; 410 ± 14 vs 352 ± 13 lat/min).

Grupo	DIURESIS ($\mu\text{l}/\text{min} \pm \text{SEM}$)		FENa (% $\pm \text{SEM}$)		uNa.V ($\mu\text{Eq}/\text{min} \pm \text{SEM}$)	
	90 MIN	120 MIN	90 MIN	120 MIN	90 MIN	120 MIN
C	$7,9 \pm 1,0$	$6,8 \pm 0,9$	$0,26 \pm 0,08$	$0,19 \pm 0,05$	$0,81 \pm 0,19$	$0,55 \pm 0,12$
CB	$6,0 \pm 1,1$	$5,5 \pm 1,0$	$0,18 \pm 0,06$	$0,14 \pm 0,05$	$0,60 \pm 0,08$	$0,43 \pm 0,09$
CB+DA	$20,7 \pm 3,4^*$	$21,5 \pm 3,2^*$	$1,31 \pm 0,11^*$	$1,42 \pm 0,18^*$	$3,8 \pm 0,4^*$	$4,1 \pm 0,5^*$
CB+D-22	$6,5 \pm 0,9$	$5,7 \pm 0,9$	$0,17 \pm 0,05$	$0,12 \pm 0,07$	$0,62 \pm 0,11$	$0,45 \pm 0,11$
CB+DA+D-22	$8,0 \pm 1,3\#$	$8,3 \pm 1,4\#$	$0,35 \pm 0,08^{**}$	$0,36 \pm 0,09^{**}$	$1,3 \pm 0,12^{**}$	$1,4 \pm 0,1^{**}$
CB+D-24	$6,6 \pm 1,2$	$5,3 \pm 1,1$	$0,16 \pm 0,08$	$0,13 \pm 0,06$	$0,58 \pm 0,09$	$0,42 \pm 0,06$
CB+DA+D-24	$9,0 \pm 2,0\#$	$8,6 \pm 1,8\#$	$0,38 \pm 0,06^{**}$	$0,34 \pm 0,05^{**}$	$1,4 \pm 0,09^{**}$	$1,3 \pm 0,08^{**}$

* $p < 0,01$ vs CB; ** $p < 0,01$ vs CB+DA; # $p < 0,05$ vs CB+DA. n= 6-9. Test de Tukey y ANOVA.

Conclusión: Con síntesis de DA endógena inhibida, los efectos tubulares de la DA exógena fueron inhibidos en presencia de los bloqueantes

específicos de los OCTs, D-22 y D-24, demostrando *in vivo* que dichos transportadores están implicados en la captación tubular de DA y por lo tanto en mediar los efectos natriuréticos y diuréticos de la DA. La alteración en la actividad y/o regulación de los OCTs puede modificar el manejo renal de DA y el balance hidrosalino.

Resumen #54: Diferencias en la excreción de sodio y en el estrés oxidativo en respuesta al estrés crónico en ratas hembras enteras, castradas y machos. Jimeno M, Farias M, Binotti S, Stagnoli S, Bensi N, Gauna H, Niebylski A. Fisiología Animal, Fac. Cs Exactas Físico-Qcas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto UNRC. Cba. aniebylski@exa.unrc.edu.ar

Numerosos trabajos muestran una menor incidencia y severidad de las enfermedades cardiovasculares en mujeres premenopáusicas que en los hombres de la misma edad. Entre los factores que disminuyen el riesgo se encuentra un efecto de los estrógenos sobre el estrés oxidativo vascular. Además los estrógenos están relacionados con la reabsorción renal del Na^+ , entre otros efectos. El objetivo del presente trabajo fue investigar la excreción de Na^+ y la capacidad antioxidante en respuesta al estrés crónico en ratas hembras y machos. Se utilizaron ratas Wistar adultas, hembras enteras (HE), castradas (HC) y machos (M). La mitad de las ratas de cada grupo se sometió a estrés por inmovilización en plancha (IMO, 1 hora/día, durante 14 días). El día 13, luego de la IMO, todas las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas durante 6 horas para la recolección de orina. El día 14, inmediatamente después de la IMO, se decapitaron y se recolectó sangre, se extrajo el hígado, los riñones y las glándulas adrenales. En orina se determinó la concentración de Na^+ , K^+ y volumen (VO). Se cuantificó la glucosa y la corticosterona plasmática. Las glándulas adrenales fueron desgrasadas, pesadas y se calculó el índice adrenosomático (IAS). En hígado y riñón se determinaron los niveles de malonildialdehído (MDA) y la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD). La glucemia, el IAS y la corticosterona aumentaron en los animales estresados de los tres grupos. Las hembras enteras excretaron menos Na^+ que las hembras castradas ($p = 0,002$) y los machos ($p = 0,017$). La IMO causó antinatriuresis en los tres grupos aunque con porcentajes de retención diferentes (HE= 48%, HC= 55,2% y M= 63,0% de sus respectivos controles). El VO aumentó en hembras castradas y disminuyó en todos los grupos estresados. Las hembras enteras mostraron mayores niveles de MDA hepático y renal que las hembras castradas y que los machos, sin embargo el estrés incrementó estos niveles sólo en el último grupo ($p = 0,01$). La SOD no tuvo el mismo comportamiento en el hígado que en el riñón; en el hígado no hubo efecto del estrés en hembras enteras y castradas. La actividad de la SOD hepática disminuyó en los machos estresados ($p = 0,042$). En el riñón el estrés incrementó la actividad de la enzima en hembras enteras ($p = 0,027$) y castradas ($p = 0,01$) sin cambios en los machos. La menor retención de Na^+ en las HE sugiere que las hormonas ováricas confieren una menor respuesta antinatriurética al estrés crónico. La ausencia de cambios en la peroxidación lipídica renal y hepática y el aumento de la actividad de la SOD renal en respuesta al estrés en ratas hembras, indica una mayor capacidad antioxidante de éstas frente a un estrés crónico, independiente de las hormonas ováricas. Estos datos, aunque preliminares, aportan a la comprensión de las causas que explicarían la menor incidencia de enfermedades cardiovasculares en el género femenino.

Resumen #63: Efectos antifibróticos y antioxidantes del tratamiento crónico con péptido natriurético atrial sobre el riñón de ratas espontáneamente hipertensas. Radionovas V Romero M, Bouchet G, Caniffi C, Savignano L, Elesgaray R, Tomat A, Mac Laughlin M, Arranz C, Costa MA. vaneradionovas@gmail.com

Introducción: Resultados previos muestran que en ratas normotensas la activación de la óxido nítrico sintasa (NOS) es uno de los mecanismos involucrados en los efectos diurético, natriurético e hipotensor del péptido

natriurético atrial (ANP), y que en animales espontáneamente hipertensos (SHR) la respuesta del sistema del óxido nítrico (NO) a este péptido está disminuida. Objetivos: Estudiar a nivel renal, los efectos de la infusión crónica con ANP sobre: el estrés oxidativo, la actividad de la NOS, la excreción de nitritos y nitros (NOx), la fibrosis en SHR adultas de ambos sexos. Materiales y métodos: SHR hembras (H) y machos (M) de 8 semanas de edad fueron separadas en dos grupos que recibieron una infusión (bombas osmóticas) de ANP (100 ng/hr rata) o de solución fisiológica (SF), durante 14 días. Al finalizar el periodo experimental se recolectó orina de 24 horas para determinar la concentración de NOx (nmol/min.100g). Los animales fueron sacrificados por decapitación y se extrajeron los riñones y se determinaron: la actividad de la NOS utilizando como sustrato 14C L-arginina (pmol 14C L-cit/min.g.tej), la peroxidación lipídica (contenido de TBARS), la concentración de glutatión (Glut), las actividades de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx) y superóxido dismutasa (SOD). Para evaluar signos de fibrosis renal, cortes parafinados fueron teñidos con Tricrómico de Masson y Sirius Red, y se realizó inmunomarcación para TGF- β . Análisis estadístico: ANOVA de dos factores, test a posteriori de Bonferroni. Resultados: Las hembras presentaron mayor excreción de NOx (M-SF=2.4 \pm 0.2; M-ANP= 3.6 \pm 0.6*; H-SF=3.2 \pm 0.2*; H-ANP=4.3 \pm 0.4#; *p<0.01 vs M-SF, #p<0.01 vs H-SF n=8/grupo) y mayor actividad de NOS renal (Médula: M-SF=501 \pm 15; M-ANP=613 \pm 8*; H-SF=563 \pm 12*; H-ANP=705.33 \pm 10#; Corteza: M-SF=402.33 \pm 13; M-ANP=491.67 \pm 15*; H-SF=459.33 \pm 11*; H-ANP=581 \pm 13#; *p<0.01 vs M-SF, #p<0.01 vs H-SF n=8/grupo). El tratamiento con ANP incrementó tanto la excreción de NOx como la actividad de la NOS, en ambos sexos. Las hembras presentaron menor contenido de TBARS y mayor concentración de Glut, así como también una menor actividad de GPx y de SOD, comparado con los machos. El tratamiento con ANP aumentó la concentración de Glut y la actividad GPx, y disminuyó los TBARS, sin modificar la actividad de SOD, en ambos grupos. Las hembras mostraron menores signos de fibrosis renal, respecto de los machos, y el tratamiento crónico con ANP disminuyó estos indicadores en ambos sexos. En arterias renales, el área de colágeno perivascular fue mayor en machos que en hembras y el tratamiento con ANP redujo este parámetro en ambos grupos.

Resumen #64: Efecto del estrés hipertónico in vivo sobre la expresión de AQP2 en médula renal de rata. Choi MR, Della Penna SL, Cao G, Zotta E, Sarati L, Fellet A&, Balaszczuk AM&, Gorzalczy S, Pandolfo M, Toblli JE, Fernández BE, Rosón MI. Cátedras de Fisiología & Fisiopatología, Farmacología# y Bioquímica Clínica*, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Unidad de Nefrología del Hospital Alemán*. INFIBIOC, CONICET. marcelinkchoi@yahoo.com.ar

El estrés hipertónico modula la expresión de AQP2 independientemente de la vasopresina. Existen evidencias in vitro que la hipertonidad extracelular regula la transcripción de acuaporina-2 (AQP2) a través de la interacción entre los factores de transcripción TonEBP y NF-kB. NF-kB unido al promotor de AQP2 actuaría como un represor transcripcional. Nuestro objetivo fue investigar in vivo si la angiotensina II (Ang II) y el estrés oxidativo como activadores, y el óxido nítrico como inhibidor de NF-kB, podrían modular en forma aguda la expresión de AQP2, en ratas infundidas con solución salina hipertónica. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley anestesiadas, infundidas a 0,04ml/min durante 2 horas con solución salina isotónica (control: C) o con solución salina hipertónica (experimentales: grupo Na: infusión con NaCl 1,0M; grupo Na-Los: NaCl 1,0M + losartán 10 mg.kg-1 en bolo; y grupo Na-Temp: NaCl 1,0M + tempol 0,5 mg.min-1.kg-1). Por otra parte, se utilizaron ratas conscientes a las que se le inyectó solución isotónica (controles: C) o hipertónica NaCl 0.8M (2ml/100gr i.p.), con y sin acceso al agua de bebida (B); grupos: C c/B, C s/B, Na c/B y Na s/B respectivamente. Se midió el flujo urinario y la excreción urinaria de sodio. Al final del período experimental, se extrajeron los riñones para medir la expresión en médula de AQP2, Ang II, eNOS y NF-kB. Los resultados se expresaron como la media \pm ES. En

las ratas anestesiadas, no se modificó la expresión de AQP2 en el grupo Na, pero aumentó la expresión de Ang II y NF-kB y disminuyó la de eNOS. En ambos grupos, Na-Los y Na-Temp normalizó la expresión de Ang II y NF-kB y se incrementó la de eNOS y AQP2 (Unidades arbitrarias (UA), C: 0,136 \pm 0,002; Na: 0,146 \pm 0,002; Na-Los: 0,178 \pm 0,003*; Na-Temp: 0,243 \pm 0,004*, *p<0,01). El flujo urinario aumentó en el grupo Na, y aún más en los grupos Na-Los y Na-Temp (p<0,05). En ratas conscientes, la expresión de AQP2 aumentó en el grupo Na c/B con respecto al grupo C c/B (UA, 1,844 \pm 0,09 vs 1,202 \pm 0,08; p<0,01). El flujo urinario aumentó (ul.min-1.kg-1, Na s/B: 264 \pm 20; Na c/B: 191 \pm 18, p<0,05) y la expresión de AQP2 disminuyó (1,478 \pm 0,10 s 1,844 \pm 0,09; p<0,05) en el grupo Na s/B con respecto al grupo Na c/B, sin cambiar la concentración urinaria de sodio. Los resultados demuestran que, en la rata anestesiada, un estrés hipertónico in vivo no modifica la expresión de AQP2 en médula renal, probablemente debido a la activación del factor NF-kB producto de un desbalance entre la expresión de Ang II y óxido nítrico. Por otra parte, en la rata consciente, el acceso al agua de bebida en condiciones de sobrecarga aguda de sodio, logra aumentar la expresión de la AQP2.

REPRODUCCIÓN

Resumen #6: Activación de la proteína Spleen Tyrosine Kinase (SYK) durante la fecundación en Bufo arenarum. Mouguelar VS, Coux G. IBR (CONICET/UNR).Fac. Cs. Bioq. y Farmacéuticas. Universidad Nac. de Rosario. Suipacha 531- 2000 Rosario, Argentina. coux@ibr.gov.ar

La fecundación consta de varios pasos secuenciales que se encuentran altamente conservados entre diversas especies. Uno de los últimos pasos es la activación del embrión. Se ha descrito que en la regulación de esta etapa participan múltiples proteína-tirosin-kinasas (PTK). De hecho, una gran variedad de procesos biológicos: división celular, diferenciación, etc., se encuentran regulados mediante la fosforilación/ desfosforilación de proteínas. Sin embargo, hasta el momento, es poco lo que se sabe acerca de la cascada de fosforilaciones y desfosforilaciones que se inicia luego de la interacción ovocito-espermatozoide y que conduce a la activación del embrión. Recientemente en nuestro laboratorio hemos descrito la participación de una proteína citosólica del ovocito con un peso aparente de 70 kDa que se fosforila en restos tirosina durante la fecundación. Nuestros objetivos en este trabajo fueron: i) estudiar el rol de esta proteína y su estado de fosforilación durante la fecundación en *B. arenarum* y ii) avanzar en su identificación. Mediante experimentos de fecundación in vitro en presencia de un inhibidor específico de tirosina quinasas (genisteína) seguidos de western-blot, se observó que la proteína de 70 kDa no se fosforila. Este resultado sugiere que el cambio de fosforilación observado depende de la acción de al menos una PTK. También se evaluó el efecto del ionóforo de calcio A23187. Bajo estas condiciones, la banda tampoco pudo observarse, lo que indicaría que la fosforilación de dicha proteína sería independiente del aumento de calcio intracelular que se produce luego de la fecundación. Las proteínas de la familia Spleen tyrosine kinase (SYK) y ZAP-70 presentan masas moleculares de 70 kDa aproximadamente, se activan por fosforilación de ciertos restos tirosina y han sido descritas en cascadas de señalización fundamentalmente en células del sistema hematopoyético. Mediante PCR se analizó la presencia de mensajeros que codifican para las proteínas SYK y ZAP-70 en ovocitos depuestos de *B. arenarum*. Se obtuvo señal sólo para SYK. A fin de confirmar estos resultados se utilizaron dos anticuerpos monoclonales comerciales (C87C1 y 65E4, Cell Signaling) los cuales permiten analizar el grado de fosforilación de SYK en los residuos Y525/526 y Y352, respectivamente. Con ambos anticuerpos pudo observarse un aumento en el nivel de fosforilación de SYK debido a la fecundación. La fosforilación de las tirosinas 525/526 de SYK es esencial para la total activación de la

actividad quinasa de SYK. La tirosina 352, por su parte, influye en la unión de SYK a proteínas como PLC γ 1, Vav1, PI3K, Lck y Grb2. Los resultados observados indican que: 1- SYK se expresa en ovocitos, siendo este el primer informe al respecto en vertebrados y, 2- durante la fecundación la proteína SYK estaría sufriendo un proceso de activación.

Resumen #28: Evidencias de la interacción entre DMBT1 y galectina-3 en oviducto porcino. Roldan ML, Marini PE. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR) – CONICET. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario roldanlorena@gmail.com.

Antes del encuentro de las gametas en el sitio de fecundación, los espermatozoides son seleccionados por el oviducto, por un lado mediante la formación de un reservorio en el que permanecen en forma quiescente y del que se liberan en número apropiado en coordinación con la ovulación; y por otro lado por selección negativa, lo cual contribuye a la prevención de la polispermia. En este último mecanismo se propone que la glicoproteína deleted in malignant brain tumor (DMBT1), anteriormente denominada sperm binding glycoprotein (SBG), se une a la región periacrosomal de los espermatozoides que han comenzado el proceso de capacitación produciendo una alteración en la integridad del acrosoma, reducción de la motilidad y fosforilación en residuos de tirosina de AKAP-4. DMBT1 se localiza sobre la superficie apical de las células epiteliales en el lumen del oviducto lo que concuerda con la localización de espermatozoides que poseen alteraciones en sus acrosomas in vivo. La expresión del gen DMBT1 se encontró disminuida o ausente en tumores de cerebro y posteriormente en varios tipos de cáncer epiteliales. El ortólogo de DMBT1 en conejos, *hensina*, induce la diferenciación en células epiteliales de túbulos colectores renales mediante su interacción con galectina-3. La co-localización de DMBT1 y CRP-ductina (ratones) en tracto gastrointestinal y en riñón, y la distribución espacial y temporal en epitelio fetal y adulto han conllevado a proponer que estas proteínas podrían ejercer una función similar con su contraparte en conejos. Frecuentemente, las vías que interrumpen la diferenciación celular son una causa de las transformaciones malignas, por lo cual se ha propuesto que la pérdida de expresión de DMBT1 posiblemente contribuye a la carcinogénesis por la perturbación de la diferenciación. Galectina-3 ha sido localizada en diversos tejidos del tracto reproductor bovino, y en trompas de Falopio y endometrio humano. Los objetivos de este trabajo fueron determinar la presencia y localización de galectina-3 y evaluar su interacción con DMBT1 en oviducto porcino. Por western blot e inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos policlonales anti-galectina-3 humana, se evidenció la presencia de galectina-3 en extractos de oviducto porcino y se la localizó sobre la superficie apical de las células epiteliales oviductales, localización coincidente con la previamente reportada para DMBT1 porcina. Posteriormente, evidenciamos por inmunofluorescencia, con anticuerpos policlonales de cabra anti-galectina-3 humana y de conejo anti-dominio CUB de cerdo, que galectina-3 co-localiza con DMBT1 en cortes histológicos de oviducto porcino. La interacción entre ambas proteínas quedó demostrada al realizar ensayos de inmunoprecipitación. La asociación entre DMBT1 y galectina-3 en la superficie apical de las células epiteliales oviductales porcina nos han conllevado a proponer que estarían cumpliendo un rol en la diferenciación del oviducto.

Resumen #57: Estudio de la anandamida (AEA) como inductor fisiológico de la liberación de los espermatozoides (ESP) del oviducto (OVI) en bovinos. Gervasi MG, Osycka-Salut C, Burdet J, Franchi A y Perez-Martinez S. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEfyBO-CONICET-UBA). perezms@fmed.uba.ar

El oviducto (OVI) de mamíferos actúa como un reservorio funcional de los ESP ya que la unión de los mismos al epitelio oviductal prolonga su vida media y retrasa la capacitación espermática, hasta que señales asociadas a la ovulación inducen su liberación permitiendo que ocurra la

fecundación. Previamente demostramos que la AEA induce la liberación de los ESP de las células epiteliales del OVI (CEO) a través de la activación de los receptores CB1 y TRPV1. Además, se sabe que las enzimas que degradan y sintetizan AEA (FAAH y NAPE-PLD) varían a lo largo del ciclo estral, sugiriendo una regulación hormonal sobre las mismas. Objetivo: Estudiar la regulación y el mecanismo de acción de la AEA en el proceso de selección oviductal de ESP. En primer lugar caracterizamos la principal vía metabólica de AEA durante el ciclo estral en el OVI bovino. Si bien la expresión y localización de FAAH y NAPE-PLD no variaron entre los estadios, la concentración de AEA medida en el fluido oviductal fluctúa en el rango nM y los mayores niveles intracelulares se encontraron en el estadio post-ovulatorio ($p < 0,05$). Esto sugiere que las hormonas podrían estar modulando el camino metabólico de la AEA oviductal. Luego estudiamos la participación de las hormonas ováricas y su relación con la AEA en la interacción ESP-CEO. Para ello realizamos experimentos de liberación de los ESP de las CEO incubando con E o P por 1, 2 ó 4h. Las hormonas disminuyeron el nº de ESP unidos a las CEO a las 2 y 4h ($p < 0,05$). La incubación con antagonistas de CB1 ó TRPV1 revirtió el efecto del E ($p < 0,05$) pero no el de P. Esto sugiere que la AEA estaría mediando el efecto del E en la liberación de los ESP del OVI. Además se estudió el mecanismo de acción de AEA en el proceso de selección oviductal de ESP. Dado que la capacitación es una de las causas de la liberación que se asocia con un aumento en los niveles de Ca $^{2+}$ espermáticos, estudiamos si la AEA participa en este evento. Los resultados indicaron que la AEA (1nM) favorece la capacitación a través de la activación de CB1 y TRPV1 ($p < 0,05$). Estudiamos además si la AEA induce cambios en la concentración de Ca $^{2+}$ en ESP bovinos en co-cultivo con CEO. Para ello determinamos el Ca $^{2+}$ en ESP en co-cultivo con CEO. La proporción de ESP que aumentó el Ca $^{2+}$ fue similar en la población de ESP del control como en la de los tratados (~30%). Sin embargo, se observó que en los ESP tratados con AEA (1nM), capsaicina (agonista específico de TRPV1; 0,1 μ M) o URB (inhibidor de FAAH, 5nM) el Ca $^{2+}$ fue mayor al control ($p < 0,05$). Este efecto se revirtió con antagonistas de CB1 y TRPV1. A partir de estos resultados, se propone que en el momento peri-ovulatorio, estímulos tales como las hormonas ováricas podrían inducir un aumento en la concentración de AEA oviductal. La AEA participaría en la regulación de la selección oviductal de ESP incrementando el Ca $^{2+}$ lo que favorece la capacitación espermática con la consecuente liberación de los ESP del reservorio oviductal.

SANGRE E INMUNIDAD

Resumen #20: La peroxidación lipídica afecta propiedades de la membrana de los glóbulos rojos en pacientes con lupus eritematoso sistémico. Spengler MI, Svetaz MJ, Leroux MB, Bertoluzzo SM, Petrelli D, Parente FM, Bosch P. Cátedra de Física Biológica, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Médicas; Sección Inmunidad Celular, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. isabelspengler@hotmail.com

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune, inflamatoria crónica, no órgano-específico que puede causar morbi-mortalidad considerable afectando múltiples órganos y sistemas. En la peroxidación lipídica, los radicales libres pueden alterar las propiedades físicas y químicas de las membranas celulares modificando la composición, empaquetamiento y distribución de los lípidos los cuales determinan propiedades de la membrana del glóbulo rojo. Cambios en la fluidez de membrana, los cuales expresan el comportamiento de la bicapa lipídica y regulan las propiedades estructurales y dinámicas de las membranas, han sido relacionados a varios estados patológicos y podrían alterar el comportamiento de los eritrocitos en el LES. El objetivo del presente trabajo es estudiar la peroxidación lipídica en la

membrana de los glóbulos rojos de 42 mujeres con LES y si ésta afecta propiedades de la misma como son la deformabilidad eritrocitaria y la fluidez lipídica de la membrana, comparando con un grupo de 52 mujeres sanas de similar edad. Todas las mujeres firmaron el consentimiento por escrito. El grado de peroxidación lipídica se determinó midiendo las concentraciones de malonildialdehído (MDA) por TBARS, la deformabilidad eritrocitaria se estimó a través de su inversa, el índice de rigidez (IR), obtenido por el tiempo necesario para la filtración de un suspensión de eritrocitos a través de poros de 5µm de diámetro. La fluidez lipídica fue medida por polarización por fluorescencia con TMA-DPH (Trimethylammonium-Diphenylhexatriene) como marcador. La anisotropía (rs) está relacionada inversamente con la fluidez. Para el análisis estadístico se utilizó la t de Student y el coeficiente de correlación de Pearson. Los resultados mostraron que las mujeres con LES presentaban valores significativamente mayores con respecto a las mujeres controles de: MDA (nmol/ml de paquete de eritrocitos) (3,64±0,71 vs 2,95±0,61, p<0,005), IR (10,03±3,89 vs 7,11±1,26, p<0,01) y rs (0,18±0,03 vs 0,14±0,01, p<0,005). Además se encontró correlación estadísticamente significativa entre MDA e IR (r =0,57; p<0,01) y entre MDA y rs (r = 0,45; p<0,05). Estos resultados señalan que el daño a las propiedades de la membrana del glóbulo rojo es producido por oxidación lipídica de la misma.

Resumen #29: Efecto del tratamiento de proantocianidinas extraídas de *Ligaria cuneifolia* (Lc) sobre propiedades reológicas eritrocitarias y concentración de colesterol plasmático en ratas hipercolesterolemicas. Beloscar L¹, Galliano S^{1,-}, González J¹, Dominighini A¹, Crosetti D¹, Urli L¹, Ronco M T², Monti J², Carnovale C², Luquita A¹. ¹Cát. Biofísica, Fac. Cs. Médicas-CIURN. UNR. ²Cát. Fisiología, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas-UNR; CONICET. laubeloscar@gmail.com

La infusión *Ligaria cuneifolia* (Lc) se utiliza en medicina popular para fluidificar la sangre. Proantocianidina (PLC) es una fracción de Lc. Previamente demostramos un aumento de fragilidad osmótica y de formas estomatocíticas al administrar por vía intraperitoneal (ip) fracción metanólica de Lc. Objetivo: Analizar el efecto del tratamiento a distintos tiempos de administración de PLC sobre la concentración de Co plasmático y sobre la forma y la resistencia osmótica eritrocitaria. Métodos: Ratas Wistar macho adultas endocriadas (n=24), de 70 días de edad, tratadas de acuerdo a normas internacionales, fueron alimentadas durante 28 días con "dieta estándar" adicionada con Co (97% de pureza) 0,8g/100g de dieta y aceite de maíz 28% (peso/peso de dieta). Se utilizaron ratas como Controles (C) (n=12) inyectadas i.p. con solución fisiológica y Tratadas (T) inyectadas i.p. con PLC 3 mg/100g peso corporal, cada 24 horas durante 3(n=6) y 7(n=6) días. Al cuarto y octavo días las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (50 mg/kg peso corporal, i.p.), obteniéndose sangre por punción cardíaca. Se determinó: 1) Forma eritrocitaria: distinción de formas por microscopía y cálculo del Índice Morfológico (IM). 2) Fragilidad osmótica (FO): incubándose 30 min a 25 °C, en soluciones de NaCl (entre 0 y 290 mOsm/kg), midiéndose fotocolorimétricamente y expresando los resultados por medio de los parámetros: X50 ([NaCl] que produce 50 % de hemólisis) y β (homogeneidad de la población). Resultados: (media ± ES) Co plasmático (mg %) : C : 121,70 ± 2,60, T3: 71,56 ± 3,64* T7: 81,80 ± 1,17**IM: C :-2,45 ± 0,19 T3: -2,18 ± 0,11 ns; T7: -2,22 ± 0,08 ns. X50: C: 0,48 ± 0,04; T3: 0,49 ± 0,02 ns ; T7: 0,47 ± 0,02ns; β; C: 9,88 ± 0,84; T3: 9,48 ± 0,63ns ; T7:10,30±1,06 ns(ns:no significativo vs. C). (**p<0,001 vs. C) Conclusión: El tratamiento ex vivo con PLC no altera la forma ni la fragilidad osmótica eritrocitaria a diferencia de lo que producía la fracción metanólica de Lc. Se logró obtener una fracción de Lc que es hipolipemiente en ratas hipercolesterolemicas y no produce cambios de forma ni fragilidad osmótica eritrocitaria a distintos tiempos de administración.

Resumen #51: Comparación de los mecanismos intracelulares involucrados en la regulación negativa de la fisiología linfocitaria inducidos por el déficit in vitro e in vivo de zinc.

Paulazo MA (1,2), Klecha AJ (1,3), Sterle HA (1,2), Barreiro Arcos ML (1), Cremaschi GA (1,3). (1) Instituto de Investigaciones Biomédicas - CONICET - UCA; (2) CEFyBO - CONICET - UBA; (3) Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA. alejandra.paulazo@gmail.com

El zinc (Zn) es un mineral esencial para la fisiología del sistema inmune dado que afecta el funcionamiento de numerosas proteínas esenciales para la señalización intracelular en las células inmunocompetentes. Su deficiencia se manifiesta a nivel inmunológico con leucopenia y un aumento importante en la susceptibilidad a las infecciones. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de la deficiencia de zinc sobre la funcionalidad linfocitaria in vitro e in vivo y estudiar los mecanismos involucrados. Con este propósito empleamos quelantes extra e intracelulares (DTPA y TPEN respectivamente) para analizar los efectos directos de la falta de Zn sobre la actividad linfocitaria. El impacto del déficit mineral in vivo fue estudiado en linfocitos T normales (LTN) obtenidos a partir de ratones hembras BALB/c alimentados con una dieta reducida en Zn (menos de 1 ppm), a partir del destete (21 días). Se corroboró la deficiencia mineral cuantificando el contenido de Zn en fémur por absorción atómica: animales deficientes en Zn (DZ) 56 ± 5.3 mg/Kg; Controles (C) 108 ± 9.4 mg/kg. Los ensayos in vitro indicaron que tanto DTPA (60 µM) como TPEN (20 µM) fueron capaces de inhibir significativamente la respuesta proliferativa al mitógeno T selectivo concanavalina A (Con A, 2 µg/ml). A su vez, el tratamiento con los quelantes provocó el aumento de las especies reactivas del oxígeno y la activación de caspasa 3. Estos efectos fueron revertidos con el agregado equimolar de Zn. Estos resultados sugieren que la disminución de la actividad proliferativa observada podría estar relacionada con la inducción de apoptosis. Con respecto a las señales intracelulares se cuantificó el efecto de los quelantes sobre la actividad de proteína quinasa C (PKC), crucial para la activación de células T y que utiliza Zn como cofactor. Se encontró que tanto DTPA como TPEN inhibieron la activación de PKC inducida por el mitógeno. Además se encontraron afectados los niveles proteicos de las isoformas estrechamente vinculadas con la activación T, a saber PKC α y θ. Similares efectos sobre la actividad linfocitaria fueron observados en las células T provenientes de ratones deficientes en Zn. Los análisis por citometría de flujo, marcando las células con Annexina V-FITC (AnV) e yoduro de propidio (IP) indicaron un incremento de la apoptosis respecto a los controles (DZ: AnV-/IP- 47.12%, AnV+/IP- 4.08%, AnV+/IP+ 10.34%; C: AnV-/IP- 94.11%, AnV+/IP- 0.21%, AnV+/IP+ 0.03%; p<0.01). Además la actividad proliferativa de los LTN DZ se redujo respecto de los LTN C, efecto acompañado por una menor activación de PKC y una reducción de la expresión de las isoformas de PKC α, β, θ y ζ. Estos resultados muestran que el déficit de Zn in vitro e in vivo produce efectos similares sobre la proliferación linfocitaria T a través de la modulación de los niveles proteicos de las isoformas de PKC lo que conduciría a la inducción de mecanismos apoptóticos.

TRANSPORTE

Resumen #10: Inducción de la proteína asociada a resistencia a multidroga 2 (MRP2) por enteroglucagon tipo 2 (GLP-2) en células caco-2. Villanueva SSM, Arias A, Perdomo VG, Rigalli JP, Ruiz ML, Luquita MG, Catania VA y Mottino AD. Instituto de Fisiología Experimental (CONICET) - Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (Universidad Nacional de Rosario). villanueva@ifise-conicet.gov.ar

GLP-2 es una hormona endógena con una actividad intestinotrófica potente y específica tanto in vivo como in vitro. Previamente observamos una inducción de la expresión (proteína y ARNm) del transportador apical de xenobióticos conjugados Mrp2 en yeyuno de rata en respuesta al tratamiento con GLP-2, favoreciendo la función de barrera química intestinal. En este estudio evaluamos si GLP-2 ejerce un efecto similar

sobre la expresión de MRP2 de origen humano. Para ello, se cultivaron células Caco-2, un modelo establecido de epitelio intestinal humano, y 7 días pos-confluencia se trataron con GLP-2 (10 μ M) o solvente (C) durante 48 hs. Se midió la expresión proteica y de ARNm por western blot y PCR en tiempo real, respectivamente. Los resultados ($p < 0.05$, $n = 6$) demuestran un efecto positivo de GLP-2 sobre MRP2, dado que la proteína (+133%) y los niveles de ARNm (+118%) aumentaron significativamente respecto de C. Además, se determinó la potencial participación de la vía de AMPc en dicha inducción. Para evaluar esta posibilidad se utilizaron dos estrategias: 1) Se midieron los niveles de AMPc en respuesta al tratamiento con GLP-2 en el cultivo celular, e independientemente: 2) Se intentó simular la acción de la hormona sobre la expresión de MRP2, incubando las células con el homólogo permeable de AMPc, dibutilil AMPc (dbAMPc, 1, 10 y 100 μ M por 48 hs). GLP-2 promovió un aumento significativo de AMPc (+270%) respecto de C, luego de 20 min de tratamiento ($n = 4$, $p < 0.05$). La mediación directa del AMPc (10 μ M) fue confirmada al observarse un aumento significativo de MRP2 (proteína: +153%; ARNm: +190%) respecto de C, similar al observado con GLP-2. Este efecto se previno al co-tratar las células con H89 (10 μ M), inhibidor específico de PKA ($n = 6$, $p < 0.05$), sugiriendo la mediación de esta proteína quinasa en la inducción de MRP2. Finalmente, se realizaron medidas de actividad de MRP2 utilizando el precursor hidrofóbico CDNB y midiendo la excreción al medio del derivado conjugado DNP-SG, sustrato específico de MRP2. Consistente con los resultados de expresión de MRP2, la incubación con dbAMPc (10 μ M, 48 hs) favoreció el transporte de DNP-SG, aumentando su concentración en el medio. Además se evaluó la citotoxicidad del CDNB luego del tratamiento de las células con dbAMPc (10 μ M, 48 hs). En estas condiciones las células mostraron mayor viabilidad, es decir, menos toxicidad por CDNB que las células C, en correlación con la mayor expresión de MRP2. Conclusión: GLP-2 modula la barrera química intestinal en células Caco-2, mediante la regulación positiva de la expresión de MRP2, posiblemente a nivel transcripcional. Se demostró que AMPc mediaría tal inducción, a la vez que PKA podría intervenir en dicho efecto, cascada abajo de AMPc. Concluimos que GLP-2 además de promover la regeneración de la estructura del epitelio intestinal, mejora su protección contra la injuria de sustancias tóxicas, sustratos de MRP2, incorporados por vía luminal.

Resumen #16: Rol de AQP3 y AQP9 en los procesos apoptóticos asociados a placentas preeclámpticas. Szpilbarg N, Reza A, Dietrich V, Di Paola M, Castro-Parodi M, Damiano AE. Laboratorio de Biología de la Reproducción. Cátedra de Biología Celular y Molecular. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. nataliaszpilbarg@gmail.com La preeclampsia (PE) es un síndrome exclusivo de la gestación humana de etiología desconocida. Se caracteriza por una invasión superficial del trofoblasto y una remodelación anormal de las arterias espiraladas uterinas que llevan a una perfusión intermitente de la placenta causando una lesión de tipo isquemia/reperusión (hipoxia/reoxigenación [H/R]). Esto actuaría como un potente inductor de estrés oxidativo y estimularía la apoptosis del sincitiotrofoblasto conduciendo a alteraciones en sus funciones como el intercambio de nutrientes y material de desecho entre la madre y el feto. En estudios previos realizados en placentas preeclámpticas encontramos una disminución en la expresión de AQP3 y un aumento en la de AQP9 que se acompañó de cambios en la distribución subcelular en ambos casos. También informamos una reducción del flujo transcelular de agua. Hasta ahora el rol de estas acuaporinas (AQPs) en placenta humana no se conoce. En otros tejidos, se las relacionó con la pérdida de volumen celular (AVD) durante la apoptosis. Si bien la apoptosis es un proceso fisiológico que aumenta progresivamente con el avance de la gestación, hay un incremento exacerbado en PE cuyas causas aún son desconocidas, aunque se sugiere que fluctuaciones en la tensión de oxígeno desencadenarían estos eventos. Nuestra hipótesis es que la desregulación de AQPs en placentas preeclámpticas estaría relacionada

con los procesos apoptóticos exacerbados por la injuria producida por la falta de oxígeno y la posterior reoxigenación. El objetivo de este trabajo es determinar si AQP3 y AQP9 intervienen en los eventos apoptóticos en placenta humana. Para ello cultivamos explantos de placentas a término en normoxia, hipoxia y H/R como un modelo in vitro de PE y evaluamos la expresión de estas AQPs por Western blot, inmunohistoquímica y RT-PCR, así como la incorporación de agua. Luego analizamos la presencia de núcleos apoptóticos, la expresión de Bax, la fragmentación del ADN y la actividad de caspasa-3 como marcadores de apoptosis antes y después de inhibir a las AQPs con HgCl₂. Nuestros resultados muestran que, en H/R, el patrón de expresión de AQPs es el mismo que en placentas preeclámpticas y que la inhibición de las AQPs con HgCl₂ disminuyó todos los parámetros de apoptosis estudiados. Por otro lado, observamos que luego de la inducción de la apoptosis la incorporación de agua disminuyó, lo que puede asociarse a la inactivación de las AQPs luego del AVD. Estos datos sugieren que las AQPs placentarias estarían implicadas en la apoptosis y en consecuencia, la desregulación de las AQPs en placentas preeclámpticas podría ser una de las causas de la apoptosis exacerbada que finalmente conduciría a las manifestaciones clínicas de este desorden hipertensivo gestacional. Establecer cuál de las AQPs está realmente involucrada en la apoptosis requerirá más estudios. Estos hallazgos podrían contribuir a generar nuevas y más efectivas terapias para lograr una gestación exitosa.

Resumen #25. Evidencias de una alta conductancia al calcio a través de la policistina-2. Cantero MR, Pérez PL, Rossi AM, Gutiérrez BC, Rodríguez V, Cantiello HF. Cátedra de Biofísica. Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires. mdrcantero@gmail.com La policistina-2 (PC2, TRPP2) es un canal iónico perteneciente a la superfamilia TRP (transient receptor potencial), que es codificada por el gen PKD2, cuyas mutaciones son causantes de la poliquistosis renal autosómica dominante. Trabajos previos de nuestro laboratorio demostraron que la PC2 está altamente expresada en el sincitiotrofoblasto (STh) de la placenta humana a término, donde mediaría la transferencia del Ca materno-fetal. Una de las principales funciones de la PC2 como canal iónico es el transporte del catión divalente Ca y su interacción con el mismo. Sin embargo, no existen datos experimentales acerca de dicho transporte, particularmente a concentraciones fisiológicas de este catión. En el presente trabajo se exploró el transporte de Ca a través de la PC2 de dos preparaciones diferentes, la proteína producida como producto de traslación in vitro (PTV) y la proveniente de vesículas apicales enriquecidas del STh, con abundante PC2 endógena (González-Perrett y cols 2001). Las corrientes de canal único permeable al Ca se determinaron mediante la reconstitución de PC2 en un sistema de bicapas lipídicas, tanto en presencia de gradientes químicos y/o bioiónicos de Ca y Ca versus K, respectivamente. Los datos experimentales obtenidos de las curvas corriente-voltaje permitieron calcular la conductancia al Ca de la PC2, que se interpretó mediante modelos basados en las teorías de campo constante de Goldman-Hodgkin-Katz y de velocidades absolutas para los dos cationes (K y Ca). La conductancia máxima obtenida en condiciones de gradiente bioiónico de K 150 mM (cis) vs. K 15 mM más Ca 90 mM (trans) fue de 16,9 pS, para el transporte de Ca a potenciales negativos. El potencial de reversión (Vrev) en estas condiciones permitió calcular la perm-selectividad catiónica divalente/monovalente. Estos datos experimentales fueron comparados con los obtenidos con la PTV en gradiente monoiónico de Ca. La medición experimental de las corrientes de Ca en presencia de Ca 100 mM (cis) y 10 mM (trans), fueron consistentes con conductancias máximas de 159 pS a potenciales positivos altos, y de 12 pS a potenciales negativos, respectivamente. El Vrev obtenido de la relación corriente-voltaje fue de -30 mV, consistente con una alta selectividad catiónica. Los datos experimentales y su interpretación teórica son consistentes con una alta permeabilidad catiónica al Ca por parte de la PC2, confirmado por corrientes medibles de Ca, que fueron

validadas en forma teórica por los cálculos de su transporte en la PC2 del STh, donde este canal tendría un papel fundamental en la transferencia de Ca materno fetal.

Resumen #26: Presencia de canales permeables al calcio en el cilio primario de las células epiteliales renales. Cantero MR, Mallou MF, Frías GB, Velázquez IF, Gardeñes CA, Cantiello HF. Cátedra de Biofísica. Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires. mdrcantero@gmail.com

El cilio primario es una organela inmóvil de estructura con forma de antena, que se extiende del centro de la mayoría de las células. Está constituido por un axonema de nueve microtúbulos externos y ninguno central (9+0). Las cilias primarias, como la mayoría de las cilias y flagelos eucariotas, están recubiertas por una membrana que es continuación de la plasmática, aunque presenta un complemento único de proteínas de localización ciliar. En los últimos años se ha encontrado una relación directa entre la función de esta organela y la patogénesis de un número creciente de enfermedades (ciliopatías), incluidas las enfermedades quísticas autosómica dominante y recesiva, anomalías embrionarias (situs inversus), la obesidad y el cáncer. Recientemente, hemos avanzado en el conocimiento del transporte de cationes a través de la membrana ciliar de las células epiteliales (Raychowdhury y cols 2005, 2009), particularmente el mediado por la policistina-2 (PC2). La PC2 es un canal catiónico no selectivo, con ligera preferencia al paso de los cationes divalentes. Hemos reportado que el cilio primario es el lugar de mayor expresión de PC2 en las células epiteliales renales. El objetivo del presente trabajo fue determinar la existencia de transporte de Ca a través de canales de la membrana del cilio primario de las células epiteliales renales. Para ello se evaluó la actividad eléctrica proveniente de la membrana de cilias primarias de la línea celular LLC-PK1 en un sistema de reconstrucción de bicapas. Dichas membranas, aisladas como previamente hemos reportado (Raychowdhury y cols 2005), se reconstituyeron en presencia de un gradiente químico de Ca (100 mM vs. 10 mM) y HE-PES 10 mM llevado a pH 7,2 con N-metil-glucamina. En estas condiciones experimentales se observaron corrientes iónicas consistentes con la presencia de canales rectificantes con una conductancia máxima de 200 pS. Los datos experimentales se analizaron en términos de la aproximación de campo constante de Goldman-Hodgkin-Katz y de modelos energéticos basados en la teoría de velocidades absolutas de Eyring. El potencial de reversión de la relaciones corriente-voltaje fue consistente con una baja perm-selectividad catiónico-aniónica. El agregado de amiloride (0.1 mM) trans, sin embargo, eliminó completamente dichas corrientes, lo que sería consistente con lo reportado para el canal de la PC2 en esta preparación. En el contexto de que toda la actividad de canales es amiloride sensible, se postula la existencia de posibles complejos multicanales regulados por la permeabilidad ciliar al Ca. El presente trabajo, permite incorporar información no existente sobre mecanismos relevantes para la función sensorial del cilio primario, en particular la regulación por Ca de la función ciliar y la posible respuesta a señales ambientales asociada al mismo como cambios en el flujo apical, o cambios osmóticos en las soluciones que bañan a la cara apical de las células epiteliales.

Resumen #45: Evolución de la Expresión de Proteínas Involucradas en el Transporte de Na⁺ en el TCP durante el Envejecimiento. Potilinski MC, Amorena C. Centro de Estudios en Salud y Medio Ambiente, Escuela de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de San Martín (CESyMA-UNSAM). constanza.potilinski@gmail.com

La reabsorción de Na⁺ y consecuentemente de agua en el túbulo contorneado proximal (TCP) es el resultado del funcionamiento de dos sistemas operando en serie y afectándose mutuamente. En la membrana basolateral (MBL) la Na⁺K⁺ ATPasa (NKA) bombea Na⁺ hacia el exterior promoviendo su reabsorción, generando así, las condiciones adecuadas para que la entrada de Na⁺ por la membrana apical sea termodinámicamente favorable.

El acople funcional de la actividad de la NKA con una conductancia de K⁺ en la MBL es crítico para sostener el transporte transepitelial de Na⁺ en el TCP. Esto permite el retorno de K⁺ en la célula y de este modo mantener las condiciones necesarias para que la NKA continúe su funcionamiento. En la membrana apical la entrada de Na⁺ se encuentra mediada por transportadores activos secundarios, el de mayor importancia es el intercambiador Na⁺/H⁺ responsable del ingreso de la mayor parte de Na⁺ en el TCP. Como parte del proceso de envejecimiento el riñón muestra un deterioro progresivo en diferentes estructuras y funciones. En general puede considerarse que la función renal está preservada en los sujetos senescentes a expensas de una disminución de la reserva funcional renal (RFR). En este trabajo nos propusimos evaluar los componentes involucrados en el transporte de Na⁺ con la progresión de la edad. Para ello se realizó RT-qPCR a partir de corteza renal de ratas Wistar de 3, 7, 14 y 18 meses de edad y se evaluó la expresión de los genes correspondientes a la subunidad α de la NKA, la isoforma NHE8 del intercambiador Na⁺/H⁺ y los canales de K⁺ Kir6.1 y Kir 6.2. A su vez se cuantificó la NKA a nivel proteico por Western Blot. Como resultado observamos un aumento en la expresión del mensajero a los 7 meses con una disminución progresiva a partir de esa edad para los genes correspondientes a la NKA, NHE8 y Kir 6.1. En el caso de Kir 6.2 observamos una reducción a los 7 meses con un incremento con respecto a ese valor a los 14 y 18 meses. Estos resultados en su conjunto muestran que la expresión de los componentes involucrados en el transporte de Na⁺ se encuentran afectados con la edad, con patrones de expresión complejos.

Resumen #49: Expresión de CFTR y AQP3 en placenta humana preecláptica. Di Paola, M¹; Szpilbarg, N¹; Zotta, E²; Maskin, B³; Castro-Parodi, M¹; Damiano, AE¹. 1- Laboratorio de Biología de la Reproducción - Facultad de Farmacia y Bioquímica – UBA; 2- Laboratorio de Fisiopatología - Facultad de Medicina- UBA; 3- Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. mcastroparodi@gmail.com

La Preeclampsia (PE) es un desorden gestacional de etiología desconocida causante de una elevada morbimortalidad materno-fetal. Se caracteriza por una alteración en el desarrollo placentario con una inadecuada remodelación de las arterias espiraladas uterinas que conduciría a una perfusión intermitente de la placenta causando una lesión de tipo isquemia/reperfusión (hipoxia/reoxigenación). Como consecuencia, las funciones de síntesis y transporte del sinciotrofoblasto (hST) podrían estar alteradas, provocando cambios en los distintos sistemas de transporte, ya sea como causa o como mecanismo compensatorio de la patología. Previamente informamos la expresión de acuaporina 3 (AQP3) y acuaporina 9 (AQP9) en hST de placenta humana normal. En experimentos posteriores encontramos un aumento significativo de la expresión de AQP9 en hST de placentas preeclápticas y una falta de funcionalidad para el transporte de agua. Recientemente demostramos que el canal regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), casi indetectable en placentas preeclápticas, modularía el flujo de agua mediado por AQPs. Nuestra hipótesis es que el CFTR regularía la funcionalidad de las AQPs placentarias y que los cambios que encontramos en placentas preeclápticas serían consecuencia de las fluctuaciones en la concentración de oxígeno. Aquí nos propusimos evaluar la expresión de AQP3 y su relación con la expresión de CFTR en placentas preeclápticas vs placentas normales usando técnicas de Western Blot y doble inmunofluorescencia. También estudiamos la expresión de AQP3 y CFTR en cultivo de explantos de placenta normal expuestos a hipoxia seguida de reoxigenación, propuesto como modelo in Vitro de preeclampsia. Observamos que AQP3 disminuyó en placentas preeclápticas, aunque fue posible detectarla en la membrana del hST. En placentas normales, AQP3 co-localizó con el CFTR, mientras que en placentas preeclápticas se perdió esta co-localización, pudiendo ser esto responsable de la falta de funcionalidad de las AQPs para el transporte de agua. El mismo patrón de expresión fue observado en los explantos expuestos a hipoxia y reoxigenación. Nuestros resultados, aportan nuevas evidencias que su-

gieren que el CFTR sería indispensable para la funcionalidad de las AQP5 en placenta humana, y que los cambios observados en estas placentas serían causados por la hipoxia intermitente.

Resumen #52: Regulación de ATP extracelular en eritrocitos humanos. Leal Denis MF, Incicco JJ, Espelt MV, Lazarowski ER, Schwarzbaum PJ. Instituto de Química y Físicoquímica Biológica (IQUIFIB). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Cystic Fibrosis/Pulmonary Research and Treatment Center, University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina.

La mayoría de las células animales están expuestas al ATP y otros nucleótidos presentes en el medio extracelular. Bajo la acción de estímulos fisiológicos y farmacológicos los nucleótidos pueden acumularse e influenciar en forma parácrina o autócrina varios procesos biológicos. Se estudiaron los mecanismos que median la salida no lítica de ATP de eritrocitos humanos a partir del análisis de la cinética de acumulación de ATP extracelular (ATPe) frente a dos estímulos. Se utilizó mastoparín 7 (MST7), péptido capaz de intercalarse en la membrana plasmática y activar proteínas G triméricas, y 3V, cocktail de isoproterenol, forskolina y papaverina, cuyas concentraciones fueron optimizadas para maximizar el aumento del AMPc intracelular (inductor de la salida de ATP). Los ensayos se realizaron en ausencia y en presencia de carbenoxolona (CBX), bloqueante de pannexina 1, la cual podría mediar el transporte de ATP. El ATPe fue cuantificado de manera continua por la reacción de la luciferina luciferasa mediante dos metodologías: 1- luciferasa soluble en el medio extracelular, sensando el ATPe presente en el microambiente de las células; 2- luciferasa recombinante (proA-luc) adherida a la superficie celular, sensando el ATPe del nanoambiente celular. En presencia de luciferasa soluble, la exposición a 3V produjo un rápido incremento en la concentración de ATPe ($[ATP]_e$) a 0.98 ± 0.02 pmoles/106 células, 2 veces mayor al nivel basal. La preincubación con CBX bloqueó completamente la respuesta, indicando que la pannexina 1 actuaría como un poro permeable al ATP o como un mediador esencial en la salida del nucleótido. Estos resultados fueron confirmados al incubar eritrocitos de ratones wild type (WT) y knock-out en pannexina 1 (KO) con 3V, en presencia o ausencia de CBX. En presencia de proA-luc, la respuesta a 3V fue mayor, alcanzando la $[ATP]_e$ un pico a 2.4 ± 1.13 pmoles/106 células, seguido de una disminución exponencial de la $[ATP]_e$ hasta un valor similar al obtenido con luciferasa soluble. Mediante modelado matemático se evaluó la dinámica de los cambios observados entre el ATPe superficial y el ATPe presente en el microambiente. La exposición a MST7 produjo un rápido incremento en la $[ATP]_e$ a 3.31 ± 0.21 pmoles/106 células, 6.9 veces mayor al nivel basal. La preincubación con CBX bloqueó la respuesta en un 50%, indicando que el MST7 activaría al menos dos mecanismos de salida de ATP, donde uno de ellos podría ser mediado por pannexina 1. El mismo patrón se observó en eritrocitos de ratones WT expuestos a MST7, mientras que la respuesta de eritrocitos de WT frente al CBX fue similar a la del KO. Se concluye que las cinéticas de ATPe observadas son compatibles con la salida de ATP mediante al menos dos vías independientes. Para ambos estímulos, la concentración del ATPe resultante permitiría, in vivo, la activación de receptores purinérgicos que median respuestas celulares y sistémicas. Con subsidios UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187) y ANPCyT (0151).

Resumen #66: Homeostasis del ATP extracelular (ATPe) en eritrocitos de *Xenopus laevis*. Badorrey MS, Leal Denis MF, Incicco JJ, Montalbetti N, Espelt MV, Schwarzbaum PJ. Instituto de Química y Físicoquímica Biológica (IQUIFIB). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina solbadorrey@gmail.com

Los eritrocitos de *Xenopus laevis* constituyen un modelo celular para el estudio de procesos de transporte transmembrana de nucleótidos. Se sabe que estas células liberan ATP al medio extracelular frente a diversos estímulos y que la concentración de ATP extracelular ($[ATP]_e$) podría ser

regulada por:

1- La salida de ATP mediada por pannexina 1 o por exocitosis, lo que lleva a un aumento de la $[ATP]_e$.

2- La hidrólisis extracelular de ATP_e por actividad ectoATPasa, lo que lleva a una disminución en la $[ATP]_e$.

El objetivo del presente trabajo es analizar los mecanismos que regulan la $[ATP]_e$ utilizando eritrocitos de *Xenopus* estimulados con mastoparín 7 (MST7), un péptido que se intercala en la membrana celular y activa proteínas G triméricas. La $[ATP]_e$ fue cuantificada de manera continua por el sistema luciferina-luciferasa, mientras que la actividad ectoATPasa fue estimada a partir de la liberación de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{Pi}$ a partir de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. Las células fueron sembradas sobre cubreobjetos con poli-D-lisina (células adheridas) o sin poli-D-lisina (células no adheridas). Para identificar las vías de salida de ATP las células fueron preincubadas con brefeldina A (inhibidor de la exocitosis) o carbenoxolona (inhibidor de Pannexina 1). Resultados:

- Tanto en presencia como en ausencia de adhesión celular, el MST7 produjo un aumento significativo de la $[ATP]_e$, pero en células adheridas este aumento fue 8,7 veces superior al obtenido con células no adheridas.
- En células adheridas, la exposición a carbenoxolona redujo la salida de ATPe en 19%, mientras que la brefeldina A no indujo cambios significativos.
- Se observó una importante actividad ectoATPasa ($1,2 \pm 0,2$ pmoles/106 cel/min a $1 \mu\text{M}$ ATP), que fue 45 veces superior a la de eritrocitos humanos. Se construyó un modelo matemático para, mediante ajuste a los datos experimentales, cuantificar la importancia relativa de la salida de ATP y la hidrólisis de ATPe en la regulación del ATPe. Además el modelado permitió determinar el perfil cinético de los flujos de ATP que median la salida de ATP. Conclusiones: en eritrocitos de *Xenopus* la adhesión celular constituye un importante estímulo para la liberación de ATP mediada por MST7. La inhibición parcial de la salida de ATPe con carbenoxolona indica que la pannexina 1 participa en el transporte de ATP, mientras que la exocitosis no sería un mecanismo importante. El incremento en la $[ATP]_e$ inducido por el MST7 es contrarrestado en parte por la actividad ectoATPasa. Con subsidios UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187) y ANPCyT (0151)

Índice por autores

A

Acuña MJ 38
Aiello EA 28
Alvarez C 36
Álvarez Juliá A 43
Alvarez ML 40
Amorena C 50
Amorena CE 30
Araoz A 44
Argenziano MA 30
Arias A 48
Arranz C 27, 31, 32, 33, 34, 45
Arriaga SM 38
Azzi EJ 38

B

Badano J 22
Badorrey MS 51
Balaszczuk AM 29, 46
Barosso IR 39
Barreiro Arcos ML 48
Basiglio CL 38, 39
Becerra R 29
Bellusci AD 44
Beloscar L 48
Bensi N 42, 45
Bertoluzzo SM 47
Bianciotti L 13
Bianciotti LG 42
Binotti S 42, 45
Blanco PG 30
Boaglio AC 39
Bonazzola P 27, 30
Borgatello C 26
Bosch P 47
Bouchet G 33, 34, 45
Boveris A 24
Bues F 39
Burdet J 47
Bustamante J 43

C

Caeiro X 42
Calcaterra NB 11
Caldiz CI 28

Caniffi C 27, 34, 45
Cantero MR 49, 50
Cantiello HF 49, 50
Cao G 46
Capurro C 36, 37
Cardelli Alcalde D 31
Carnovale CE 34, 36
Carranza A 45
Carrillo MC 34, 40
Casella ML 40
Castro C 30
Castro-Parodi M 49
Catania VA 48
Ceballos MP 40
Cerniello M 34
Chiappe GE 28
Choi MR 45, 46
Ciancio MC 28
Cingolani HE 26, 28
Colareda GA 30
Consolini AE 30
Contini M del C 44
Corrales Barbosa A 31
Correa F 35
Costa MA 27, 31, 32, 33, 34, 45
Coux G 11, 46
Cremaschi GA 48
Crosetti D 48
Crottogini A 31
Czerniczyniec A 43

D

Damiano AE 49
Dasso M 33
Davio C 12
De Giusti VC 28
De Laurentiis A 35
Della Penna SL 46
De Lorenzi A 31
De Martino M 28
de Tezanos Pinto F 36
Díaz RG 26
Di Carlo MN 33
Dietrich V 49
Di Giusto G 36, 37

Di Loreto V 39
Di Paola M 9, 49
Dominighini A 48
Duarte J 29

E

Elesgaray R 27, 31, 32, 33, 45
Ennis 16
Ennis IL 26, 28, 31
Escudero EM 31
Espelt MV 36, 51

F

Fantinelli JC 28
Farias M 45
Favre C 35, 41
Fellet A 29, 46
Fernández BE 45, 46
Fernández JM 36, 37
Ferrero P 33
Ferretti AC 35, 41
Ford P 36, 37
Francés DE 34, 36
Franchi AM 10, 47
Frías GB 50

G

Galliano S 48
García BN 40
García-Gras EA 30
García M 42
Gardeñes CA 50
Gauna H 45
Gauna HF 42
Gervasi MG 47
Giannoni F 42
Giorgi G 41
Gobetto N 31, 32
Godino A 42
Gonano L 32
González Arbeláez LF 28
Gonzálvez J 48
Gorzalczanic S 45
Goya RG 18
Gradilone SA 21

Guil MJ 42
Guridi J 26
Gutiérrez BC 49
Gutnisky A 43

H

Harnichar E 33
Hermes R 44
Herrera L 33
Herrero A 29
Hnatiuk A 31
Hope SI 42

I

Ibarra C 44
I de Pianesi M 8
Incicco JJ 51

J

Juárez RP 38
Juriol L 31, 32

K

Klecha AJ 48
Kouyoumdzian NM 45
Kravetz MC 45

L

Lacunza E 33
Lago NR 44
Laguens R 17, 31
Lanza EM 43
Lapadula P 27
Larocca MC 35, 41
Lazarowski ER 51
Leal Denis MF 51
Lehmann GL 37
Leroux MB 47
Linares LM 26
Locatelli P 31
Lombarte M 39
López MS 43
López Ordieres MG 43
Lores Arnaiz S 43
Luce V 35

Lugano MC 39
Luquita A 48
Luquita MG 48

M

Mac Laughlin M 45
Mahieu S 44
Mallou MF 50
Manulak MA 43
Marchissio MJ 36
Marinelli RA 36, 37
Marini PE 47
Marrone J 37
Martinez C 29
Maskin B 50
Mattaloni SM 35, 41
Mattiuzzi A 29, 30, 33
M de Jensen AN 43
Melendi S 44
Mendes Garrido F 32, 33
Millen N 44
Mir CN 43
Monasterolo LA 39
Montalbetti N 51
Monti J 34
Morales VP 42
Moretta RE 30
Morgan PE 26, 28
Mosca SM 28
Mottino AD 38, 48
Mouguelar VS 46
Mundiña-Weilenmann C 29
Muñoz González F 27, 34

N

Nabhen S 42
Nacher S 44
Niebylski A 45
Niebylski AM 42
Nolly MB 28, 31

O

Ochoa F 44
Ochoa JE 38
Olea FD 31

Oltra G 44
Orlowski A 28
Osycka-Salut C 47

P

Pagotto MA 39
Palomeque J 30
Pandolfo M 45, 46
Parente FM 47
Parody JP 34, 40
Paulazo MA 48
Perdomo VG 48
Perez-Martinez S 47
Pérez NG 26, 31
Pérez Núñez IA 28
Pérez PL 49
Petrelli D 47
Pineda G 27
Pinilla OA 31
Pisani G 34, 39
Pizzoni A 36
Potilinski MC 50

Q

Quiroga MV 39

R

Radionovas V 27, 45
Ragone MI 30
Ramírez R 31
Reca A 49
Rettori V 35
Reyes A 27
Reyes MP 26
Reyes-Toso CF 26
Riera L 44
Rigalli JP 48
Rivarola V 36, 37
Rivera Pomar R 33
Rodríguez de Lores Arnaiz G 43
Rodríguez V 49
Roldan ML 47
Roma MG 38, 39
Romero M 34, 45
Ronco MT 34

Índice por autores

Roque ME 40, 41
Rosón MI 46
Rossi AM 49
Ruiz ML 48
Rukavina Mikusic NL 45

S

Said M 29, 33
Salas M 33
Sánchez Pozzi EJ 38, 39
Sarati L 46
Saratti L 29
Savignano L 34, 45
Schwarzbaum PJ 14, 36, 51
Scoppa HG 42
Scremin Ou 26
Sepúlveda D 31
Sepúlveda M 22
Seyahian A 44
Sommese L 30
Soria LR 37
Spengler MI 47
Stagnoli S 45
Sterle HA 48
Suarez di Salvo D 27
Sueiro L 27, 34
Svetaz MJ 47
Szpilbarg N 49

T

Taborda DR 37
Tavella B 29
Tiscornia GC 30
Toblli JE 46
Toledo FD 38, 39
Tomat A 31, 32, 33, 45

Tonucci F 35, 41
Trigo C 43
Trumper L 39

U

Urli L 48

V

Valdivieso L 31
Valverde C 33
Valverde CA 33
Vatta MS 42
Veiras L 32
Velázquez IF 50
Velez Rueda JO 30
Viglione PN 26
Vila Petroff M 16, 32
Villa-Abrille MC 26, 28, 31
Villanueva SSM 48
Viña Ribes J 23
Vittone L 29
Vivas L 42

W

Wallerger ML 26
Weiner AMJ 11
Wenk G 27, 34

Y

Yeves AM 28, 31

Z

Zanlungo S 14
Zilberman J 27, 31
Zotta E 44, 46
Zucchetti A 39

SAFIS 2012

SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGIA
REUNION ANUAL 2012

ROSARIO, 4 Y 5 DE OCTUBRE DE 2012

Organiza,



SAFIS

Sociedad Argentina de Fisiología

Financiado por,

CONICET



AGENCIA
NACIONAL DE PROMOCION
CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA



Conclusiones del Segundo Encuentro de Docentes de Fisiología

El Segundo Encuentro de Docentes de Fisiología y Física Biológica se realizó el día 3 de octubre de 2012, en la ciudad de Rosario, provincia de Santa Fe, en el marco del Congreso Anual de la Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS), con la finalidad de proseguir con la tarea comenzada en el primer Encuentro, realizado en 2010, de encontrar un espacio común entre docentes e investigadores en la materia y con los siguientes propósitos específicos:

- Actualizar el diagnóstico de la situación actual de la enseñanza de la Fisiología y Física Biológica.
- Discutir sobre nuevos desafíos en la Enseñanza de la Fisiología, nuevas estrategias didácticas y de evaluación.
- Debatir sobre la “competencias docentes”.
- Discutir y promover el desarrollo de la investigación en los Departamentos de Fisiología.
- Promover la actualización docente permanente.

El encuentro tuvo nuevamente una gran convocatoria y contó con la participación de 111 docentes de distintas universidades públicas y privadas de todo el país:

- Universidad Nacional de Buenos Aires (UBA)
- Universidad Nacional de Cuyo (UNC)
- Universidad Nacional de La Plata (UNLP)
- Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER)
- Universidad Favaloro
- Universidad Nacional del Litoral (UNL)
- Universidad Nacional de Misiones
- Universidad Nacional del Comahue
- Universidad Nacional de Rosario (UNR)
- Universidad Nacional del Nordeste (UNNE)
- Universidad Nacional de Tucumán (UNT),
- Universidad del Hospital Italiano de Buenos Aires
- Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba

Todos los docentes participaron con gran entusiasmo.

El programa del Encuentro, que se adjunta, comenzó con palabras de bienvenida de la Profesora María Rosa Depretis, representante de la Secretaría de Políticas Universitarias, quien se refirió al apoyo brindado por la Secretaría al desarrollo del Encuentro y a las diferentes acciones de la Secretaría en materia de Políticas Universitarias.

Luego de dichas palabras, se realizó un panel de Docentes de Fisiología donde intervinieron profesores de Fisiología de diferentes Universidades del país cuyo eje fue “Debilidades y fortalezas en la enseñanza de la Fisiología” y “Reflexiones sobre los procesos de acreditación curricular”.

A continuación la titular de la Cátedra de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP, presentó los resultados de un relevamiento hecho con anterioridad, cuyo objetivo fue realizar un diagnóstico de la enseñanza de la disciplina en las Facultades de Medicina de todo el país.

Luego, se organizaron grupos de trabajo para el desarrollo de talleres, donde se usó como material de trabajo las diferentes temáticas presentadas previamente: los resultados de la

encuesta y las debilidades y fortalezas en la enseñanza de la Fisiología, presentadas en el panel inicial.

Por la tarde se realizó otro panel con docentes invitados, donde se presentaron experiencias innovadoras en la Enseñanza de la Fisiología.

A continuación la Licenciada Amanda Galli brindó una conferencia de cierre sobre el tema “Evaluación de la calidad de los exámenes”.

Como acto final, cada grupo elaboró las conclusiones de su trabajo en los talleres, que se transcriben a continuación.

CONCLUSIONES DE LOS TALLERES

a) Características de los alumnos de hoy dada por sus docentes:

- 1) En general, los alumnos son más activos, interpelan, cuestionan. Las nuevas tecnologías los estimulan. Sin embargo esta característica varía según la carrera de salud elegida hasta situaciones en que los alumnos se presentan pasivos y poco motivados.
- 2) Se destaca una marcada diferencia de madurez entre los estudiantes de primer y segundo año.
- 3) Los ingresantes presentan realidades diferentes según las carreras del área de salud que elijan.
- 4) Se acentúa luego de la cursada de anatomía la adquisición de una metodología de estudio memorística.
- 5) La situación económica condiciona la elección de la carrera y su dedicación a la misma. Eligen carreras que les otorgan becas para su realización más que por vocación.
- 6) Los grupos de alumnos son muy heterogéneos: eso puede ser un inconveniente (según algunos) o enriquecedor (según otros).
- 7) La escuela secundaria no forma adecuadamente para los estudios universitarios.
- 8) A los estudiantes les cuesta llegar a la comprensión y más a la abstracción. Esta característica es común a sectores de diferentes recursos económicos.
- 9) El docente abusa de las presentaciones en Power Point en detrimento de otros recursos como razonar en el pizarrón o en voz alta.
- 10) Aún con buena relación docente alumno el grado de razonamiento sigue siendo pobre.
- 11) Los alumnos son un reflejo de lo que somos y hacemos nosotros: juntamos papeles para el C.V. igual que ellos para aprobar la asignatura.
- 12) Proponemos reformular la consigna de trabajo, porque si la enseñanza– aprendizaje es un proceso retroalimentado podría pensarse en contar también con la opinión de los alumnos.

b) Existe relación entre el perfil de los docentes que enseñan fisiología y los resultados del aprendizaje?

- 1) No existen estudios sobre la correlación del perfil del docente respecto del resultado del aprendizaje.
- 2) Hubo consenso respecto de que la interdisciplinariedad debe priorizarse sobre un perfil único en la formación docente. La cátedra debe plantear una currícula con

objetivos y competencias definidos al que todos los docentes deben responder más allá de su formación de grado.

- 3) Hubo consenso en que la fisiología es única y su inclusión dependería del perfil de egresado de cada carrera y los contenidos que se prioricen y profundicen.

Pedidos a instancias jerárquicas de evaluación y acreditación institucional:

- A. Replantear la inclusión de la labor docente en todas las instancias de evaluación individual y grupal (concursos, incentivos y subsidios).
- B. Incluir en estos estándares de evaluación el desarrollo de herramientas didácticas y/o tecnología educativa.
- C. Estimular desde el Ministerio de Educación de La Nación la circulación de estos instrumentos educacionales entre las universidades nacionales.

En resumen, creemos que el Encuentro tuvo éxito ya que se cumplieron holgadamente los objetivos planteados. En particular, los mismos docentes que concurrieron, expresaron la necesidad e importancia de realizar periódicamente estos encuentros, que permitan la integración de profesores provenientes de distintos puntos del país, para enriquecerse con el intercambio de experiencias, brindar nuevas ideas y alternativas innovadoras a la enseñanza de la Fisiología. Estas conclusiones fueron enviadas a todas las Instituciones participantes y publicadas en la página web de la Sociedad Argentina de Fisiología.

Por otro lado es importante destacar que de los resultados obtenidos en este Encuentro, se enviaron a dos comunicaciones que fueron presentadas en la reunión de la Conferencia Argentina de Educación Médica (CAEM), realizada entre el 14 y el 16 de Septiembre de 2011 en la Universidad Católica de Buenos Aires.