

ISSN 1669-5402 (Print)

ISSN 1669-5410 (Online)



*Physiological
Mini-
Reviews*

Edited by the Argentine Physiological Society.

*Especial Issue:
Vol. 5, N° 4, January - February 2010.*

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

Physiological Mini-Reviews

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

Edited by the **Argentine Physiological Society**

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

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

Editorial Board:

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

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

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

Founding Editor: Mario Parisi, Buenos Aires, Argentina

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

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

Preparation and Submission of manuscripts:

"Physiological Mini-Reviews" will have a maximum of 2500 words, 30 references and 4 figures. Material will be addressed to scientific people in general but not restricted to specialist of the field. For citations in the text and reference list see Cerejido et al. Vol 1, Nº 1. Final format will be given at the Editorial Office. Most contributions will be invited ones, but spontaneous presentations are welcome. Send your manuscript in Word format (.doc) to: mini-reviews@safisiol.org.ar

Advertising:

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

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



REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA
PRIMER ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA

Realizado junto con el Congreso de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica

17 DE NOVIEMBRE DE 2010
HOTEL 13 DE JULIO, MAR DEL PLATA, ARGENTINA

DISCURSO DE LA PRESIDENTA DE LA SOCIEDAD
ALICIA MATTIAZZI

Estimados amigos:

En primer término quiero darles la bienvenida en nombre de SAFIS, a todos sus miembros y a todos los asistentes a este Congreso.

Es un honor para mí haber sido presidenta de SAFIS durante estos dos últimos años. SAFIS fue fundada como ustedes saben, por el Dr. Bernardo Houssay y refundada hace pocos años por el gran esfuerzo del Dr. Mario Parisi y de un grupo de investigadores que sintieron que los investigadores básicos en Fisiología nos debíamos una sociedad. Estos antecedentes explican por sí mismos el por qué del honor que siento. Pero además, es un honor para mí haber sido presidenta de SAFIS por los investigadores a los que la Sociedad representa, con los que estoy íntimamente consustanciada en sus esfuerzos, sus necesidades y sus esperanzas. Porque a pesar de lo ardua de la tarea, siempre creemos que algo se puede hacer desde aquí, y que vale la pena el esfuerzo. Este congreso es en parte, un reflejo de esa creencia.

Refundada la Sociedad, empezamos a marchar nuevamente. Muchas veces independientemente y otras cobijados, como en este caso, por SAIC. Quiero agradecer especialmente a la comisión directiva de SAIC, fundamentalmente a la Dra. Irma Slavutsky, por su actitud abierta para recibirnos, para escuchar ideas, propuestas, cambios, por su generosidad. También a Liliana Rossetti, por la enorme labor realizada y su ayuda incondicional. Liliana se "puso la camiseta" del Congreso. No sólo de SAIC, también de SAFIS y de SAFE.

El año pasado no pudimos unirnos a SAIC, ya que asistimos en la misma fecha, a la XXIII reunión de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas realizada en Chile. En ese Congreso, SAFIS organizó dos simposios y representó a nuestro país en la reunión de sociedades que allí se realizó y que determinó que la próxima reunión Latinoamericana fuera en Brasil. También el año pasado realizamos en La Plata nuestro Congreso anual. Fueron dos días intensos, con simposios, cursos, conferencias, talleres y más de 80 comunicaciones.

En el contexto del presente Congreso, SAFIS organizó dos simposios con invitados nacionales e internacionales, un almuerzo con expertos a cargo del Dr. Ariel Escobar, de la Universidad de California en Merced y dos conferencias. La primera a cargo del Dr. Edward Lakatta, del Laboratorio de Ciencias Cardiovasculares perteneciente al NIH, en Baltimore, Estados Unidos; la segunda a cargo del Dr. Daniel Shulz, de la Unidad de Neurociencias perteneciente al CNRS, en Gif sur Yvette, Francia. A todos ellos nuestro sincero agradecimiento. Se presentaron además para esta Reunión, más de 70 comunicaciones, muchas de las cuales se postularon a uno de nuestros dos premios, el interdisciplinario SAFIS y el premio María Cristina Camilión de Hurtado, destinado a los trabajos sobre el tema cardiovascular. Este último recuerda a una investigadora en dicha área que ha sido ejemplo de trabajo y dedicación. Desde aquí queremos rendirle una vez más, nuestro homenaje.

Quizás la mayor novedad de nuestro Congreso es que se organizó por primera vez, un Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología y Biofísica. Según el comentario de uno de los miembros de la comisión directiva, organizar un encuentro de este tipo es casi una transgresión para SAFIS. En cierto sentido lo es, ya que somos una sociedad de investigadores. Pero creo a la vez, que es la Sociedad adecuada desde donde debe partir este tipo de iniciativa. Porque este encuentro permite hacer el diagnóstico de las debilidades y las fortalezas de la enseñanza de la Fisiología y Biofísica en el país y conocer entre otras cosas, cómo y quiénes las enseñan y además con qué dedicación. Este último no es un dato menor ya que implica conocer aproximadamente cuántos docentes de Fisiología y/o Biofísica se dedican a investigar en la Universidad y pone en la mesa de discusión el concepto fundamental de Universidad no sólo como transmisora, sino como creadora de conocimiento. Este concepto, que podría parecer una verdad de Perogrullo, no lo es tanto. No siempre las autoridades de nuestras casas de estudio tienen clara esta idea. En la Universidad en general y en las Facultades de Medicina en particular, no siempre los investigadores son reconocidos y apoyados. Creo que es importante que se enfatice que la investigación en la Universidad es esencial. Fundamentalmente por ser la búsqueda de la verdad el objetivo de la Universidad desde su inicio como tal. Pero además, por el valor agregado que el que investiga le da a la transmisión del conocimiento. En alusión a este tema, Mario Bunge ha dicho: "Quien no está al día en su ciencia no puede enseñar ciencia al día", "Quien no se dedica primordialmente a buscar la verdad no es capaz de transmitir entusiasmo por dicha exploración".

Es desde este lugar que creo que nuestra Sociedad puede tener un rol importante. Parafraseando al Dr. De Nicola, ex presidente de SAIC, podemos decir que "en la actualidad los médicos en la investigación son casi una especie en extinción". De este tipo de encuentros puede resultar la necesidad no sólo de que haya más médicos en la enseñanza de la Fisiología, sino de que haya más docentes con mayor dedicación a la investigación y de que todo profesor, no sólo el de Fisiología, esté involucrado en una actividad científica. Ciertamente, un objetivo no explicitado de este encuentro es reinstalar esta discusión en nuestras Facultades de Medicina.

Un segundo objetivo no explicitado, es conectarnos con fisiólogos de todo el país. La mayoría de los miembros de SAFIS pertenecen a Buenos Aires y a unas pocas ciudades del interior. Creo que con este tipo de reuniones, lograremos acercar a nuestra sociedad y a nuestros congresos, a gente de lugares más distantes. Por eso es que esperamos que las mismas puedan repetirse con una frecuencia adecuada para que este contacto permanezca y se renueve.

Antes de terminar, quiero agradecer a la profesora Amanda Galli y a la licenciada Marta Pérez por su invaluable intervención en la organización de este encuentro. También a todos los participantes en el mismo. A la Secretaría de Políticas Universitarias del Ministerio de Educación de La Nación y a la Legislatura de la Provincia de Buenos Aires, que permitieron cubrir al menos parcialmente, la asistencia de docentes de Fisiología de distintos lugares del país. También al CONICET y a la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica, cuyos respectivos subsidios nos permitieron llevar adelante el congreso y otorgar becas para la asistencia al mismo. Finalmente agradezco a los participantes invitados al congreso, a los organizadores de simposios, los jurados de premios, los evaluadores de resúmenes, los coordinadores de pósters, a toda la comisión directiva de SAFIS, que me acompañó incondicionalmente durante estos dos años y especialmente a los que estuvieron más próximos y siguieron de cerca mi gestión, los doctores Matilde Said y Martín Vila-Petroff. También a la gente de SAFE por los buenos momentos compartidos junto a SAIC, durante la organización de este Congreso.

Sólo me queda desearles que disfruten la propuesta científica de esta Reunión y que tengan una feliz estadía en Mar del Plata.

17 DE NOVIEMBRE

8-17:30 Hs

Primer Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología y Física Biológica

19:30 Hs:

Conferencia Inaugural SAFIS

Edward Lakatta. Laboratory of Cardiovascular Science Gerontology Research Center
Baltimore, MD. "Novel perspectives on how the heart's pacemaker works."

18 de Noviembre

Simposio 1 - 18-20 Hs

Regulación central y periférica del balance hidrosalino

Coordinadores:

Marcelo Vatta. Catedra de Fsiologia (IQUIMEFA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Laura Vivas. Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra CONICET, Córdoba, Argentina

Disertantes:

Javier Stern. Department of Physiology, Medical College of Georgia, USA Unconventional signaling mechanisms underlying hypothalamic regulation of fluid balance homeostasis.

Laura M. Vivas. Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra CONICET, Córdoba, Argentina

Control neuroendócrino del balance de sodio corporal: rol de la serotonina y la oxitocina

Ana Balaszczuk. Cátedra de Fsiología (IQUIMEFA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Transtornos de la volemia: Criterios y avances en las alteraciones hemodinámicas e hidrosalinas

20-21 Hs Asamblea SAFIS.

19 DE NOVIEMBRE

Almuerzo con Expertos: 19 de noviembre 12 hs.

Dr. Ariel Escobar. University of California, Merced. USA. Cómo medir señales intracelulares "in vivo" mediante fibras ópticas.

Simposio 2 - 14-16 Hs

Regeneración miocárdica: de la fisiología a la terapia reparativa.

Coordinadores:

Irene Ennis. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, Argentina.

Alberto Crottogini. Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina

Disertantes:

Rubén Laguens, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina

Replicación cardiomiocítica durante el ciclo vital en mamíferos grandes

Alberto Crottogini, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina

Reparación miocárdica con el gen de VEGF: de los modelos animales al paciente

Santiago Miriuka, FLENI, Buenos Aires, Argentina.

Perspectivas terapéuticas de las células madres pluripotentes en enfermedades cardiovasculares

20 DE NOVIEMBRE

Conferencia - 12-13 Hs

Daniel Schulz. CNRS, Unite des Neurosciences Integratives and Computationelles, Francia. "Touch in the brain"

17 de Noviembre de 2010

En el marco del Congreso de las siguientes sociedades biomédicas:

Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS) - Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC) - Sociedad Argentina de Farmacología Experimental (SAFE)

Propósitos:

- Diagnosticar la situación actual de la enseñanza de la Fisiología.
- Discutir nuevas técnicas y presentación de experiencias innovadoras
- Contribuir a la actualización docente permanente.

Presidente: Licenciada Amanda Galli

Coordinadoras: Licenciada Marta Pérez, Profesora Dra. Matilde Said,

Coordinadora general: Profesora Dra. Alicia Mattiazzi

8.00 hs. Acreditación

8:50 hs. Palabras de bienvenida: Profesora María Rosa Depretis, Secretaria de Políticas Universitarias, Ministerio de Educación de La Nación.

9:15 - 10:15 hs. Panel de docentes

Moderador: Licenciada Marta Pérez (La Plata).

9:15 - 9:30 hs. Dr. Gabriel Orce (UNT) "Fortalezas en la Enseñanza de la Fisiología"

9:30 - 9:45 hs. Dra. Marta Fiol de Cuneo (UNC): "Debilidades en la Enseñanza de la Fisiología"

9:45 - 10:00 hs. Dr. Enrique Pérez Albizú (UNLP): "Reflexiones sobre los procesos de evaluación y acreditación en las carreras de medicina. Resolución Ministerial N° 1314"

10:00 - 10:15 hs. Preguntas y discusión.

10.15 - 10.30 hs. Dra. Leticia Vittone (UNLP): Presentación de los resultados de la encuesta a los docentes de Fisiología.

10.30 - 10:45 hs. Café

10:45 - 12.15 hs. Grupos de trabajo: Talleres de discusión de los resultados de la encuesta, las fortalezas y debilidades de la Enseñanza de la Fisiología. Se organizarán grupos de trabajo designando un secretario para registrar las conclusiones.

12.15 - 13.30 hs. Libre

13.30 - 16.00 hs. Panel - Experiencias Innovadoras en la enseñanza de la Fisiología y Física Biológica

13.30 - 13.50 hs. Dr. Marcelo García Dieguez (UNS) "Experiencia en Aprendizaje basado en problemas"

13.50 - 14.00 hs. Dr. Alberto Crottogini (UF): "Como integrar la Clínica a la Fisiología"

14.00 - 14.10 hs: Dra. Rut Agüero (UNR): "Articulación de Fisiología en la Currícula innovada 2001 de la Fac de Cs Médicas de la UNR"

14.10 - 14.40 hs. Dr. Margarita Salas (UNLP)-Dr. Adolfo Galarnternik (Bs As): "La nueva enseñanza de la Fisiología: muñecos que simulan pacientes"

14.40 - 15.10hs: Waldo Salazar, (AD Instruments, Chile): "Metodología de Registro para la enseñanza activa de la Fisiología"

15.10 - 15.30 hs: Dra. Cristina Carnovale (UNR): "Actividades de Laboratorio como parte de la enseñanza de la Fisiología".

15.30 - 15.45 Intervalo Café

15.45 - 16.15 hs:

Conferencia

Licenciada Amanda Galli: "Evaluación de la calidad de los exámenes".

16.15 - 17.30 hs: Presentación de conclusiones de los grupos y análisis de las recomendaciones.

A GENERAL THEORY OF CARDIAC CHRONOTROPY AND INOTROPY: INTRACELLULAR Ca^{2+} CYCLING DETERMINES HOW FAST AND HOW STRONG THE HEART BEATS

Edward G. Lakatta

National Institute on Aging, National Institutes of Health, Baltimore, MD, USA

Early studies of the origin of the heart's function focused simultaneously on both excitability and contraction. However, following development of quantitative membrane excitability theory in 1950s, research into mechanisms of pacemaker cell function and cardiac myocyte contraction had proceeded along essentially separate paths, often in isolation of each other. The pacemaker research field became dominated by the idea that pacemaker cell function could solely be accounted for by an ensemble of sarcolemmal ion channels that produce rhythmic action potentials (AP), via reciprocal activation and inactivation of ion channels that cause change in membrane voltage, i.e., rhythmic AP's. Research on the duty cycle of ventricular myocytes, ie. contraction, in contrast, became dominated by studies of intracellular Ca^{2+} regulation by proteins that regulate Ca^{2+} flux into and out of the cytosol (Ca^{2+} cycling), particularly those of the sarcoplasmic reticulum (SR), the major intracellular Ca^{2+} store within the cells, Ca^{2+} interactions with myofilament proteins, and with proteins that regulate flux Ca^{2+} into and out of the cell.

While recognition of the importance of Ca^{2+} cycling in pacemaker function has been late to emerge, recent evidence that rhythmic, spontaneous Ca^{2+} releases from SR within cardiac pacemaker cells prompt the surface membrane to generate rhythmic APs provides the key that reunites pacemaker and ventricular cell research (1). Thus, perspectives gleaned from isolated reductionist achievements to elucidate how the ventricular myocytes regulate their strength of contraction and how pacemaker cells regulate the spontaneous beating rate is regulated have finally converged.

A general theory for how fast and how strong the heart beats emanates from the realization that signals for both faster and stronger beating of the heart are transduced via common cell effectors. Specifically, sequestration and release of Ca^{2+} to and from SR is an intracellular signal transduction mechanism common to both basal function of ventricular myocytes and pacemaker cell and is required for normal function of both cell types. Graded synchronization of local Ca^{2+} releases (LCRs) from the SR via ryanodine receptors (RyR) is the basis of graded function within both cell types. An increase in number of LCRs that occurs within a given epoch, e.g., during spontaneous diastolic depolarization in SANC, or due to triggered LCR activation via CICR induced by an AP in ventricular cells. This recruitment of RyRs to fire within an epoch in either cell type reflects a synchronization of the kinetics gating and activation of individual RyRs. For example, an increase in the global cytosolic Ca^{2+} transient amplitude by AP induced by CICR in ventricular cells indicates that more RyRs have been recruited to fire within that epoch. Ditto for an increase in the spontaneous LCR signal mass that initiates generation of an AP in SANC. A crucial difference in these Ca^{2+} cycling within the two cell types is that in SANC, a high level of basal cAMP-PKA-CaMKII signaling is present, which even the absence of G-protein coupled receptor (GPCR) stimulation, allows rhythmic, partially synchronized, spontaneous LCRs to normally occur during the DD between successive APs. This LCR occurrence amplifies the rate of DD change, prompting surface membranes to generate an AP. Extension of the same basal transduction signaling pathways by GPCR receptor stimulation in SANC effects slower or faster heartbeats; and in ventricular myocytes, changes in synchronization of the functions of cycling molecules occurring in response to GPCR results in stronger or weaker heartbeats. It follows, therefore, that synchronization of RyR activation and Ca^{2+} release effected by a coupled complex system of cardiac intracellular and membrane molecular functions is a general theory that embraces the mechanisms of chronotropy in the heart's pacemaker cells to inotropy in ventricular cells and accounts for how fast and strong the heart beats.

Reference

1. Lakatta EG, Maltsev V, Vinogradova TM. A coupled SYSTEM of intracellular Ca^{2+} clocks and surface membrane voltage clocks controls the timekeeping mechanism of the heart's pacemaker. *Circulation Research* 2010; 106:659-673.

TOUCH IN THE BRAIN

Daniel E. Shulz

Unité de Neuroscience, Information et Complexité, CNRS, Gif sur Yvette, France

The somatosensory system is unique among the other sensory systems in that it must convey information about objects that come directly in contact with the receptors on the skin surface. These objects must be represented in the central nervous system accurately in space and rapidly in time so as to maintain contact for further exploration or disengage from contact to avoid potentially harmful consequences. Different animal species have adapted to this requirement by the use of different parts of the body to gather tactile information. While primates reach and feel objects mainly with their hands and fingers, many other mammals, particularly rodents, use the whiskers on the snout for exploring the environment. Interestingly, levels of tactile discrimination performances are comparable in humans, monkeys and rodents. Moreover, the tactile sensations mediated by the whiskers seem analogous to tactile perception through remote touch with a tool in humans.

Using the primary somatosensory cortex of the rat (also known as the barrel cortex) as a system model, our research is centered on four scientific topics that will be presented during the conference:

First, we study the neuronal processes responsible for the coding of sensory information by using controlled tactile stimulation spatially distributed on the receptor surface coupled to electrophysiological recordings of populations of neurons in the intact brain. Recent findings show that functional responses are dynamic and depend on the statistics of the sensory inputs.

It is known that the whisker-to-barrel cortex system shows persistent modifications in its structure and functioning that are proposed to underlie learning and memory of tactile information, as well as recovery of function after injury. Our second line of research concerns the study the functional and synaptic adaptation of the cortical neuronal activity within the theoretical framework of several plasticity algorithms. Recently, we have demonstrated a particular kind of plasticity that depends on the precise timing and order of input/output signals to single neurons.

We also include in the research on functional plasticity, the study of permissive factors linked to the attentional and behavioral state of the animal which are known to be mediated by ascending neuromodulatory systems, with a special focus on the cholinergic system. We have demonstrated a neuronal analogue of state-dependent learning that depends on the activation of muscarinic receptors during acquisition and recall of sensory information.

Finally, we started very recently to apply a neuroprosthetic approach to build an efficient brain-machine interface that can be mastered by the rat with maximum accuracy and speed, within a multi-dimensional environment. This engineer-like approach aims to respond to an urgent demand at the clinical level, but also opens a set of specific neuroscientific issues that we are willing to address towards a more in depth understanding of the brain ability to adapt and to process information.

REGULACIÓN CENTRAL Y PERIFÉRICA DEL BALANCE HIDROSALINO

Unconventional signaling mechanisms underlying hypothalamic regulation of fluid balance homeostasis

Javier E. Stern.

Department of Physiology, Medical College of Georgia, Augusta, GA 30907, USA

Concerted activities between the neuroendocrine and autonomic nervous systems are required for proper maintenance of fluid balance homeostasis. Moreover, an imbalanced interaction between these systems contributes to maladaptive responses characteristic of disease conditions such as hypertension, heart failure and diabetes. The paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) is a key CNS center for homeostatic control, responsible of coordinating autonomic and endocrine/neuroendocrine CNS outputs. Within this context, our laboratory aims to elucidate neurobiological mechanisms underlying neurohumoral integration and homeostatic responses by the PVN, both in health and disease conditions. Here, I will summarize emerging evidence supporting somatodendritic release of peptides and neuro-glial interactions as unconventional mechanisms bridging information across neuroendocrine and autonomic networks within the PVN.

Intranuclear somatodendritic release of neuropeptides is an important autocrine feedback mechanism by which neurosecretory neurons regulate their own firing discharge and neurohypophysial hormone release. Emerging data from our laboratory supports that intranuclear release of peptides also mediate inter-network communication between the neuroendocrine and autonomic PVN. Results from multidisciplinary studies including whole-cell patch-clamp electrophysiology, confocal calcium imaging, photolysis of caged-compounds and immunohistochemistry, show that somatodendritic release of vasopressin (VP) from neurosecretory neurons enhance sympathetic-related PVN neuronal activity, effects mediated by V1a receptors present in cell bodies and dendrites of these neurons. VP modulation of sympathetic PVN neuronal activity is regulated in an activity-dependent manner, under the dynamic control of endogenous aminopeptidases. Whole animal studies support this mechanism to be critical for proper neurohumoral responses to central osmotic stimulation.

In addition to being passive supporting elements, astrocytes are recognized as critical players in information processing within the CNS. In the SON and PVN, we find astrocytes to tightly control the activity of autonomic and neuroendocrine neurons, through multiple and complementary mechanisms. These include modulation of ambient levels of neurotransmitters, as well as production and release of the non-conventional gas molecule nitric oxide (NO). Importantly, we found VP to increase astrocytic calcium levels, influencing in turn the calcium-dependent release of NO. In summary, results from our laboratory support intranuclear release of VP as an important signaling mechanism underlying cell-cell communication and fluid balance homeostasis within the PVN.

NEUROENDOCRINE CONTROL OF BODY SODIUM BALANCE: ROLE OF SEROTONIN AND OXYTOCIN.

Vivas L., Godino A., Carrer H.F.

Instituto Ferreyra (INIMEC CONICET), Córdoba, Argentina.

Changes in body water/sodium balance are tightly controlled by the central nervous system (CNS) to avoid an abnormal cardiovascular function and develop of pathological states. This process of sensory integration takes place in different nuclei, with diverse phenotype and at different levels of the CNS. The aim of the present work was to study the specific neurochemical groups, their roles, their connections and the associated endocrine responses during body sodium depletion or sodium overload conditions. For this purpose we combined the immunohistochemical detection of different neurotransmitters, a retrograde transported dye and a marker of

neural activity. We have also analyzed the firing frequency changes employing "in vivo" single-unit extracellular recording. Our main results demonstrated that in body sodium depletion states the serotonergic cells of the dorsal raphe nucleus (DRN) are activated after body sodium status was reestablished, independently of the concentration of the NaCl consumed, suggesting that this system is involved in the inhibition of sodium appetite under conditions of satiety. In contrast, the paraventricular and supraoptic oxytocinergic neurons were activated, and the oxytocin plasma levels increased only after hypertonic NaCl intake, in both depleted and nondepleted animals, suggesting that this system is involved in the processing of hyperosmotic signals. **Our hodological results provide insight into how the different neurochemical groups form a neural network that regulates body fluid balance showing the main integratory nuclei involved in the satiety phase of sodium appetite.** Finally, the electrophysiological experiments may allows us to confirm in an "in vivo" model, that the DRN serotonergic neurons increases their firing frequency during an increase in systemic sodium concentration and osmolality, possibly to modulate sodium and water intake/excretion and avoid an extracellular volume expansion.

Supported by ANPCyT and CONICET.

TRANSTORNOS DE LA VOLEMIA: CRITERIOS Y AVANCES EN LAS ALTERACIONES HEMODINÁMICAS E HIDROSALINAS

Ana M. Balaszczuk.

Cátedra de Fisiología (IQUIMEFA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

El valor de la presión arterial y el balance de sodio y agua están estrechamente vinculados con los cambios en el volumen del líquido extracelular. Cuando se instaura un desequilibrio hidrosalino por trastornos de la volemia se activan diferentes mecanismos nerviosos, renales y humorales que participan no sólo en la regulación de la presión arterial, sino que también, en la adaptación de la función renal contribuyendo a mantener la homeostasis del organismo.

El óxido nítrico (NO), en su estado natural es un gas, perteneciente a las especies reactivas del oxígeno, liberado por la conversión del aminoácido L-arginina en L-citrulina, por acción de la enzima NO sintetasa (NOS). En la actualidad ha adquirido un creciente interés el papel que desempeña esta molécula como reguladora de diferentes procesos fisiológicos y fisiopatológicos. En el sistema cardiovascular, al igual que en otros tejidos, han sido detectadas las tres isoformas de la NOS: NOS inducible (iNOS), NOS endotelial (eNOS) y NOS neuronal (nNOS). El NO es liberado por casi todas las células del corazón ejerciendo múltiples efectos sobre su funcionamiento. Modula la respuesta inotrópica y cronotrópica, la homeostasis del Ca^{2+} en el miocito, la transmisión autonómica, el consumo miocárdico de O_2 y la eficiencia mecánica. En nuestro Laboratorio demostramos que el NO participa en las modificaciones de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca durante un estado hipovolémico inducido por una pérdida aguda de sangre mediante la activación dinámica, heterogénea y tiempo-dependiente de las isoformas de la NOS cardíacas. Con respecto a la función renal, es conocido que el NO induce cambios en la hemodinamia renal, en la reabsorción de sodio y de agua en segmentos específicos del nefrón, modulando la diuresis y natriuresis. Nuestros hallazgos brindaron evidencia de que el NO está involucrado en la modulación de los niveles proteicos y el tráfico de los canales de agua acuaporinas (AQP2) hacia el lado apical de células tubulares medulares regulando la reabsorción de agua, y consecuentemente, la concentración urinaria luego de inducir un shock hemorrágico. En conclusión, tomando en consideración la importancia del NO en la regulación fisiológica de la función cardiovascular y renal, no es sorprendente que una alteración en sus funciones se asocie a la fisiopatología inducida por trastornos en la volemia.

REGENERACIÓN MIOCÁRDICA: DE LA FISIOLÓGÍA A LA TERAPIA REPARATIVA

Replicación cardiomiocítica durante el ciclo vital en mamíferos grandes

Rubén Laguens

Director, Departamento de Sc. Básicas de la Patología, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina

El dogma de que en la vida adulta los cardiomiocitos son células incapaces de replicar ha sido cuestionado recientemente. Los estudios publicados con corazones humanos normales rindieron resultados muy dispares, desde una renovación total de células cada seis meses hasta solamente un 40% a lo largo de toda una vida, índice de que el tema dista mucho de estar aclarado. Por el contrario, en situaciones patológicas con pérdida de miocitos, existe consenso que la capacidad regenerativa es nula, o tan escasa que no alcanza para suplir las células faltantes. Este hecho motiva la profusión de estudios y de inversiones con la intención de inducir su replicación, o reemplazarlos con progenitores capaces de diferenciarse en miocitos adultos, con resultados inciertos.

Es sabido que en el humano, pero no en los roedores, se mantiene la capacidad de replicar el ADN, dado que en situaciones de sobrecarga aumenta la ploidía, lo que indica el ingreso en el ciclo celular, pero están inhibidos los mecanismos de cario y citocinesis con formación de células hijas. El conocimiento de los mecanismos de esa inhibición es importante para desarrollar estrategias de reparación miocítica. Para ello es necesario emplear corazones humanos, o recurrir a especies con un comportamiento similar, y realizar los estudios tanto durante el desarrollo normal como en condiciones patológicas.

En nuestro laboratorio hemos estudiado los mecanismos de replicación miocítica en corazones ovinos normales desde los 7 días hasta los 2 años de edad empleando marcadores del ciclo celular y de replicación de ADN, y técnicas de morfometría y densitometría, para determinar la proporción de células en el ciclo celular y en mitosis, el volumen, el número de núcleos por célula y la ploidía en miocitos aislados, y el número total de núcleos y de miocitos en el ventrículo izquierdo.

La replicación de ADN, la entrada en el ciclo celular y las mitosis cesan a los 45 días. Desde los 60 días hasta los 2 años la proporción de núcleos tetraploides desciende, asciende progresivamente la de miocitos monucleados, y aumenta el volumen y el número total de miocitos y de núcleos.

Estos resultados indican que en el desarrollo del corazón ovino la cario y la citocinesis se realizan mucho tiempo después de la replicación del ADN y entrada en el ciclo celular, y que los tres fenómenos son asincrónicos, sugiriendo la presencia de mecanismos de cario y citocinesis diferentes de los que existen en otras células.

HIGH MOTILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) PROTEIN AND CARDIAC REPAIR

Maurizio C. Capogrossi

Chairman, Dipartimento di Patologia Vascolare, Istituto Dermopatico dell'Immacolata, Roma, Italia

Background: HMGB1 (H) injection into the mouse heart, acutely after myocardial infarction (MI), improves left ventricular (LV) function and prevents myocardial remodelling. Here, we examined the effect of H in chronically failing hearts and miRNAs potential role in H-mediated response.

Methods and Results: HMGB1 (H; 200 ng) or denatured HMGB1 (C) were injected in the peri-infarcted region of mouse failing hearts 3 weeks after MI. Four weeks after treatment, Ejection Fraction by echocardiography was 9% higher in H than in C mice ($p < 0.001$); further, H enhanced LV developed pressure (LVDP; 73.28.3 vs 64.17 mmHg; $p < 0.01$) and lowered LV end-diastolic pressure (LVEDP; 16.83.2 vs 19.63.2 mmHg; $p < 0.05$). LV remodeling was significantly attenuated in H mice as indicated by 23% ($p < 0.05$) reduction in LV volume and 48% ($p < 0.05$) increase in infarcted wall thickness ($p < 0.05$). Importantly, HMGB1 affected infarct scar formation: HMGB1-injected hearts displayed 19% reduced collagen deposition ($p < 0.0001$) and enhanced MMP2, MMP9 and MMP13 activity by zymography. Importantly, H-treated hearts exhibited evidence of regeneration: an increase in newly formed

myocytes (16.53×10^6 vs 1.35×10^6 ; average volume $579 \pm 113 \mu\text{m}^3$ vs 324 ± 183 ; $p < 0.0004$), and in arteriole length density (14.5 ± 6.5 vs $7 \pm 3 \text{ mm/mm}^3$; $p < 0.05$) was detected. miR-206 expression 24 days after MI was 4-fold higher than in sham operated mice ($p < 0.05$); further, 3 days after H treatment, miR-206 increased 5-fold ($p < 0.03$) compared to C whereas miR-29a, -29b, -29c, -1, -21, -133a and -133b were not modulated by H. Fibronectin (Fn) and Tissue Inhibitor of Metalloproteases 3 (TIMP3) were identified as potential miR-206 targets by TargetScan prediction analysis. Real Time PCR demonstrated Fn and TIMP3 downregulation in H-treated hearts. In agreement with this observation, in cultured cardiac fibroblasts, miR-206 overexpression inhibited and miR-206 antagomir enhanced Fn and TIMP3 mRNA by Real Time PCR.

Conclusions: H injected into chronically failing hearts enhances LV function, tissue regeneration and attenuates LV remodeling; these effects are associated with miR-206 overexpression and miR-206-mediated reduction of Fn and TIMP mRNA.

ROL DEL GEN DE VEGF EN LA REPARACIÓN MIOCÁRDICA: DE LOS MODELOS ANIMALES AL PACIENTE

Alberto Crottogini

Director, Departamento de Cs. Fisiológicas, Farmacológicas y Bioquímicas -Universidad Favaloro

La cardiopatía isquémica es la mayor causa de morbi-mortalidad en el mundo. Para los pacientes no pasibles de revascularización convencional y que permanecen sintomáticos a pesar de recibir tratamiento médico óptimo, la angiogénesis terapéutica ha sido propuesta como una alternativa posible.

Los primeros estudios en animales de laboratorio y en pequeños grupos de pacientes en los que se utilizó el gen de factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) humano arrojaron resultados prometedores. Sin embargo, los ensayos clínicos randomizados, a doble ciego y controlados por placebo en cohortes más numerosas no mostraron beneficios significativos.

En el ensayo Euroinject, en el que se administró 0,5 mg de un plásmido codificante para VEGF por inyección intramiocárdica, no se observaron diferencias entre el grupo tratado y el placebo a los tres meses de seguimiento. Una dosis cuatro veces mayor, como la que se usó en el ensayo NORTHERN, tampoco resultó en diferencias significativas en cuanto a síntomas anginosos, perfusión miocárdica o tiempo de marcha a los 3 y 6 meses de seguimiento.

Estos resultados desalentadores podrían deberse, entre otras razones, a que la dosis utilizada haya sido insuficiente. En un ensayo abierto, no controlado por placebo, de inyección intramiocárdica de un plásmido codificante para VEGF desarrollado por Bio Sidus (Buenos Aires, Argentina), nosotros hemos observado que una dosis que duplica la usada en el ensayo NORTHERN es segura y mejora los síntomas, la perfusión miocárdica y la fracción de eyección de stress a 6 meses de seguimiento. No obstante, la ausencia de un grupo placebo nos impide sacar conclusiones valideras.

Otros temas cruciales que merecen ser mejor investigados son la optimización de los vectores, la vía de administración más eficiente y la posología apropiada (administración única versus repetida). Tampoco sabemos qué grupo de enfermos es el que más se beneficiaría de la angiogénesis por terapia génica.

Por último, el gen de VEGF podría tener un rol en la insuficiencia cardíaca post-infarto. En mamíferos grandes hemos demostrado que el pVEGF no sólo puede promover la proliferación de precursores miocardiocíticos residentes sino que puede inducir a los miocardiocitos adultos a reentrar en el ciclo cardíaco y hacer mitosis. Una regeneración miocárdica de esta naturaleza aseguraría la conexión electromecánica fisiológica entre los miocitos nuevos y los preexistentes, lo cual aún no ha sido demostrado con el implante de células madre.

En resumen, el gen de VEGF tiene un significativo potencial en la cardiopatía isquémica. La escasez de resultados positivos en ensayos randomizados recientes, lejos de desalentar su uso, debe estimular la investigación en aspectos básicos fundamentales, de los cuales, actualmente, tenemos un conocimiento fragmentado.

PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS DE LAS CÉLULAS MADRES PLURIPOTENTES EN ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Santiago Miriuka

Director, Programa de Insuficiencia Cardíaca y Transplante Cardíaco, FLENI. Investigador, Laboratorio de Biología del Desarrollo Celular, FLENI. Investigador Clínico, CONCIET.

El concepto de célula madre (CM) es aplicado a diferentes tipos celulares que abarcan esencialmente dos patrones característicos: las CM adultas, caracterizadas por su diferenciación direccionada y limitada, y las CM pluripotentes (CMP), las cuales son capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares adultos. Esta potente propiedad ha atraído la investigación en este campo en los últimos años. En primer lugar, la generación de líneas estables de CM embrionarias (CME) humanas permitió avances significativos en la comprensión de los primeros eventos de la diferenciación en seres humanos. La manipulación de la misma permitió elaborar diferentes protocolos para la obtención de poblaciones celulares adultas derivadas de CME, tales como cardiomiocitos, células beta pancreáticas o neuronas dopaminérgicas. Estos avances plantearon la posibilidad de utilizar estas células en tratamientos regenerativos. Más recientemente, estas esperanzas fueron revitalizadas con el descubrimiento de la reprogramación celular. Brevemente, este procedimiento consiste en tomar una célula adulta y diferenciada (por ejemplo un fibroblasto) e introducir (por medio de un lentivirus, retrovirus, etc.) una serie de factores de transcripción específicos para pluripotencialidad. Con el correr de las semanas se obtienen colonias con capacidades similares a CM embrionarias llamadas CM pluripotentes inducidas (CMPi). Por lo tanto, esta metodología expande notoriamente las posibilidades con las células madre pluripotentes al obtener las mismas a partir de individuos adultos y posibilitar un implante con células adultas autólogas. Además, esto permite generar modelos in vitro específicos de diferentes enfermedades genéticas. En nuestro laboratorio trabajamos actualmente en diferentes protocolos de diferenciación CME a cardiomiocitos, estudiando diferentes mecanismos implicados en la misma. Además, hemos reprogramado fibroblastos humanos y obtenido células madres pluripotentes inducidas. Esta presentación hará hincapié en los recientes avances mencionados, en nuestras líneas de investigación, y en los futuros desafíos de la traslación de estos avances a tratamientos clínicos de probada eficacia.

ELECTROFISIOLÓGIA

1. Intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en la arteria umbilical humana: caracterización de sus corrientes iónicas mediante la técnica de patch-clamp. Enrique N, Martín P, Roldán Palomo AR, Rebolledo A, Milesi V. Grupo de Investigación en Fisiología Vascular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Se ha demostrado que el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de la membrana plasmática tiene un importante rol funcional en el músculo liso vascular. Alteraciones en su funcionamiento han sido relacionadas con la etiología de la hipertensión dependiente del consumo de sal. Nuestro objetivo fue caracterizar este intercambiador en células de músculo liso vascular de la arteria umbilical humana (AUH) mediante la medida de corrientes iónicas a través del mismo en "inside-out patches". En células frescas disociadas enzimáticamente observamos la activación de una corriente iónica con una amplitud de $5,5 \pm 1,2$ pA ($n=15$) evocada por el aumento de la concentración de Na^+ intracelular en presencia de $1 \mu\text{M}$ de Ca^{2+} . La remoción del Ca^{2+} intracelular inactivó la corriente y su posterior restitución activó una de mayor amplitud ($14,1 \pm 3,4$ pA; $n=12$). Estos resultados preliminares muestran en primer lugar que es posible registrar la corriente del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en células nativas, lo cual constituye un sistema muy interesante para el estudio de las propiedades electrofisiológicas y farmacológicas de dicha estructura. Además, las diferencias observadas en presencia y ausencia de Ca^{2+} confirman que en la AUH esta estructura tiene un sitio regulador dependiente del Ca^{2+} intracelular, como ha sido demostrado en miocitos cardíacos, entre otros.

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

El sinciotrofoblasto (SCT) en la placenta humana regula el transporte de nutrientes entre la madre y el feto. El Canal Regulador de la Fibrosis Quística (CFTR), presente en el SCT, además de formar un canal de Cl^- , también regula la actividad de otros canales como el Canal Aniónico de Rectificación Saliente (ORCC). Estas evidencias sugieren que CFTR y ORCC estarían presentes en las células BeWo, una línea celular derivada de trofoblasto humano, utilizada como modelo para el estudio del transporte en la placenta.

Mediante la técnica de patch-clamp en la configuración de célula entera, detectamos corrientes de Cl^- en células BeWo, con una conductancia (g) saliente macroscópica de $24,5 \pm 5,9$ pS/pF, determinada entre 0 y 100 mV ($n=6$). Por estudios de canal único en la configuración inside-out, identificamos un canal lineal, compatible con CFTR ($g = 15,0 \pm 0,9$ pS, $n=4$) y otro canal de Cl^- , también funcional, con rectificación saliente y propiedades similares al ORCC (g saliente = $55,0 \pm 4,4$ pS, g entrante = $20,7 \pm 6,5$ pS, $n=7$), inhibible con glibenclámda. Además, observamos las bandas esperadas del canal CFTR por RT-PCR (295 pb) y por Western blot (~ 160 kDa).

Los datos presentados en este trabajo serán la base para futuros estudios del mecanismo involucrado en el transporte de la placenta normal y en condiciones patológicas.

3. Caracterización del canal de K^+ de tipo TREK-1 de la familia de canales de background K_{TP} en la arteria umbilical humana (AUH). Martín P, Roldán Palomo AR, Enrique N, Flores LE, Raschia MA, Rebolledo A, Milesi V. GINFIV, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. CENEXA, UNLP-CONICET.

El objetivo del trabajo fue la identificación y la caracterización electrofisiológica (patch-clamp) y farmacológica de estos canales en células de músculo liso aisladas enzimáticamente a partir de la AUH ($n=34$). En la configuración de canal único de cell-attached observamos, en 11 células, un canal de una conductancia de $135,3 \pm 5,9$ pS con una probabilidad de apertura (NPo) de $0,262 \pm 0,083$ (+40 mV), que al pasar a inside-out cambió a una conductancia de $251,5 \pm 7,8$ pS ($p < 0,05$) y NPo = $0,005 \pm 0,001$ (+40 mV, $p < 0,05$). En ambos casos la NPo presentó una dependencia exponencial con el voltaje. La disminución del pH (de 7,4 a 6,0) de la solución en contacto con la cara interna de la membrana y el ácido araquidónico ($10 \mu\text{M}$) produjeron un aumento significativo de la actividad del canal ($n=6$ en cada caso). La bupivacaína ($300 \mu\text{M}$) provocó una inhibición rápida del canal ($n=4$). Mediante la técnica de Reverse Transcriptase-PCR se confirmó la presencia del RNAm para el canal TREK-1 mientras que no se halló el correspondiente al TREK-2. Estos resultados nos permiten sugerir que el canal TREK-1 esta funcionalmente expresado en la AUH, ya que las propiedades electrofisiológicas y farmacológicas se corresponden con las descriptas para este tipo de canal.

ENSEÑANZA DE FISIOLÓGIA

1. Efectos de la discusión en la instrucción por pares. Giuliadori, M.J., Lujan, H.L., and DiCarlo, S.E. ¹Fisiología, Fac. Cs. Veterinarias, UNLP, Dept. Physiology, Wayne State Univ. School of Medicine. Detroit, USA.

En un curso de Fisiología Veterinaria (N:101) se utilizó Instrucción por pares (IP) y se evaluó qué sucede cuando discuten pares con la misma o con diferente respuesta individual, qué efecto poseen el acierto y la confianza (seguridad) en la respuesta individual en las discusiones, y qué tipo de interacciones generan los efectos de la IP. Se identificaron los alumnos con números (PIN) y se usaron cuestionarios donde cada alumno debía anotar su PIN y el de sus pares, y las respuestas con la confianza. Los cuestionarios se usaron para estimar las respuestas correctas (# y %) y los niveles de confianza. La probabilidad de cambiar fue mayor en las respuestas individuales incorrectas (OR:3.52, P<0.01) y en las de baja confianza (OR=3.95, P<0.01). Además, las respuestas con baja confianza tuvieron más chances de ser incorrectas (OR:2.0, P<0.01). La mayor parte de los cambios se produjeron en los grupos con diferentes respuestas individuales (81% del total de cambios, P<0.05), y a su vez, en esos grupos con disenso, más cambios fueron de incorrecto a correcto que viceversa (58% vs. 26%, P<0.05). Así, los efectos positivos de IP fueron mayores que los negativos (OR:2.7, 73% vs. 27%, P<0.05) y se debieron a que en el disenso cambian más los que tienen la opción incorrecta, y a que en el consenso cambian algunos grupos en los que todos sus integrantes tienen la respuesta incorrecta. En conclusión, en las discusiones prevalecen los alumnos que poseen la respuesta correcta.

ESTRÉS OXIDATIVO

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

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

INMUNOLOGÍA

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

¹Spengler, M.I.; ²Svetaz, M.J.; ³Leroux, B.; ¹Petrelli, D.; ¹Van Isseldk, F.; ¹Bosch, P.; ¹Parente F.; ¹Bertoluzzo S.; ¹Carrara P..

¹Cát. Física Biológica, Fac.Cs Médicas; ²Inmunidad Celular, Dpto Bqca Clín., Fac.Cs Bioq., UNR,

En este trabajo se estudió la agregación eritrocitaria (AE), el índice de rigidez eritrocitaria (IR) y la fluidez lipídica de la membrana eritrocitaria (FL) en 26 mujeres con LES y 27 dadoras sanas. La AE se estimó midiendo la variación, en el tiempo, de la luz transmitida a través de una muestra de sangre entera, dando 2 parámetros que estiman: s_0/n_0 : el tamaño de agregados y $2k_2n_0$: velocidad del proceso; IR se midió por filtración, FL por polarización por fluorescencia. La anisotropía (r) se relaciona inversamente con FL. Se utilizó t de Student y coeficiente correlación de Pearson. Los resultados mostraron que las mujeres con LES presentaban valores significativamente mayores respecto de los controles de: s_0/n_0 (1,890.05 vs 1.800, 07, p<0.02), $2k_2n_0$ (1.04 0.71 vs 0.750.61, p<0.05), IR (9,84 4,78 vs 7,111,26, p<0,05), r (0,180,03 vs 0,150,01, p<0,001). Se encontró correlación estadísticamente significativa entre IR y r ($r_s=0,57$; p<0,005), IR y $2k_2n_0$ ($r_s=-0,37$; p<0,05). Estos resultados nos permiten inferir que: la pérdida de FL podría ser causa del aumento en IR; la AE está aumentada pero los factores celulares no son la causa ya que la rigidez eritrocitaria disminuye la velocidad de agregación.

METABOLISMO DE LÍPIDOS

1. Perfil de lípidos séricos en ratones con y sin exceso de hierro. García BN, López GH, Roque ME. Fisiología Humana. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur-CONICET. Bahía Blanca.

Las múltiples relaciones entre Hierro (Fe), Radicales Libres, Ácidos Grasos (AG) y mediadores lipídicos de la inflamación, destacan que el Fe en exceso altera la síntesis de lípidos y de moléculas antioxidantes y antiinflamatorias. La propuesta fue estudiar los lípidos séricos de ratón y su composición en Ácidos Grasos, evaluando los cambios inducidos por Fe exógeno. Ratones CF1(271,8g) agrupados en: 1) Sin tratar (n=8): SF (0.5ml/i.p); 2) Tratados con Fe (n=6): Fe-Dextrán (Laboratorios Rivero) (1g/kg/0.5ml,i.p) (días:0-10). Determinación de Colesterol (Col), Triglicéridos (TG), Lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL) por colorimetría-enzimática. Extracción lipídica con KH_2PO_4 , Cloroformo/Metanol. Metilésteres de AG obtenidos por metanólisis alcalina y purificados por TLC. Composición porcentual en AG: Cromatografía Gaseosa, columna HP-Innowax. Perfil lipídico similar entre ratones tratados y sin tratar: Col (0,94g/L \pm 0.09); TG (0,86g/L \pm 0.11); LDL (0,20g/L \pm 0.024); HDL (0,70g/L \pm 0.11). Con exceso de Fe aumentaron los AG Poliinsaturados, respecto al control (28,7 \pm 6,7 a 48,20 \pm 3,2), disminuyeron los Monoinsaturados (49,1 \pm 11,2 a 25,6 \pm 5,8), y no hubo cambios en los Saturados. En el aumento de Poliinsaturados, contribuyeron principalmente el Ácido Araquidónico (20:4n-6) (6,9 \pm 1,9 a 13,5 \pm 4) y el Ácido Docosaheptaenoico (22:7n-3) (2,7 \pm 0,5 a 4,6 \pm 1,2). En la disminución de Monoinsaturados contribuyó el Ácido Oleico (18:1n-9) (48,2 \pm 11 a 23,4 \pm 6,3). Establecimos la composición en Ácidos Grasos de lípidos séricos de ratón e identificamos significativos cambios en sobrecarga de Fe. Concluimos que el aumento de Ácidos Grasos Poliinsaturados podría sugerir la participación del Fe en procesos inflamatorios mediados por moléculas eicosanoides.

2. Alteraciones del estado glicoxidativo y perfil lipídico en dieta rica en fructosa. García ME¹, Marra CA², Gagliardino JJ, Rebollo Or¹ CENEXA (UNLP-CCT-La Plata-CONICET), ²INIBIOLP (UNLP-CONICET), La Plata.

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

3. Los lípidos neutros nucleares se concentran en dominios funcionales específicos. Layerenza JP¹, González P², García de Bravo M¹, Polo M¹, Sisti MS¹, Ves-Losada A^{1,3}. ¹INIBIOLP (CCT-La Plata-CONICET-UNLP); ²Cát. Patol.-Fac. Cs. Médicas, UNLP & CIC-BsAs; ³Dpto. Cs. Biol., Fac. Cs. Exactas, UNLP

El núcleo celular (N) es una adquisición evolutiva de la célula eucariota. Posee diferentes dominios funcionales en la matriz (Mx) rodeados por una doble membrana (MN). Hemos determinado que los lípidos representan el 16 % del núcleo, Fosfolípidos(PL):84% y Lípidos-neutros(LN): 16%, con el siguiente orden porcentual: PtdCho>PtdEtn>TAG>PtdIns>Col>SM/PtdSer>>CE. El objetivo de este trabajo fue determinar la organización de LN nucleares teniendo en cuenta que representan fuentes alternativas ácidos grasos (AG) y de segundos mensajeros. Con este fin se determinaron los lípidos endonucleares (Mx) y se observó que están enriquecidos en lípidos neutros (PL: 59% y LN: 41%), a saber: TAG>PtdCho>PtdEtn>Col>SM/PtdIns/CE. Los TAG poseen un alto porcentaje de AG monoenoicos mientras que PtdCho está enriquecida en n-6. Se aplicó una técnica de aislamiento de gotas lipídicas (LD) a núcleos aislados de hígado de rata y se aisló una única banda con la siguiente composición de LN: TAG (37%), CE (34%) y Col (28%). Las LD se tiñeron con Rojo-Sudán y OsO₄ (microscopía óptica) y por tinción negativa TEM. Las LD provenientes de: la banda, núcleo, matriz y nucleoplastos (núcleos sin la membrana externa), estaban constituidas por poblaciones de gotas de diferentes tamaños. En conclusión, en el núcleo, los LN están organizados en dominios discretos, constituidos por un centro hidrofóbico de LN, recubierto por una monocapa de fosfolípidos con proteínas asociadas. En el núcleo las fuentes mayoritarias de AG son, la PtdCho y los TAG, con diferente ubicación nuclear y regulación.

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

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

SANGRE E INMUNIDAD

1. Secreción hipoxia-dependiente de eritropoyetina en ratones policitémicos: el enigma posthipóxico. Martínez, MP. Conti, MI. Barceló, AC. Bozzini, CE. Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, UBA.

La policitemia innecesaria induce hipoeritropoyesis y suprime la secreción hipóxica de eritropoyetina (EPO). Ese estado puede ser alcanzado mediante varios procedimientos, empleados en esta investigación para comparar la secreción hipóxica de EPO en ratones adultos CF#1 hembras. Estimando la masa roja circulante (MRC) mediante dilución isotópica se calculó que los ratones experimentales debían ser transfundidos con 1,33ml de eritrocitos (PTR), o expuestos a 6350m x 2sem (PHP), o inyectados con 5,55UI/d x 10d de rhEPO (PEPO) para incrementar 80% la MRC. Ratones así tratados fueron expuestos a Torr 337mmHg x 6h, observándose que la policitemia no inhibió la secreción de EPO en los PHP. En otros animales, la policitemia fue inducida mediante exposición a 0,1% CO_2 x 15d, comparándose la respuesta a hipobaría con la de ratones PTR o PEPO. La masa hemoglobínica funcional fue similar en los 3 grupos, así como la inhibición de la secreción hipóxica de EPO. En otro grupo se indujo estado hemolítico crónico mediante administración de fenilhidrazina durante 21d, siendo entonces transfundidos. La secreción hipóxica de EPO fue inhibida por la policitemia generada. El análisis de estos resultados sugiere que la hipersecreción hipóxica de EPO en el ratón con policitemia posthipóxica no reconoce como causas a) la estimulación previa de la eritropoyesis, b) la hipereritropoyetinemia crónica, o c) el estado policitémico crónico. Aparece así como causa responsable la exposición previa a hipoxia hipobárica, cuyo mecanismo de acción permanece como un enigma. *UBACYTO-05*.

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

Se utilizaron neutrófilos cargados con el indicador fluorescente BCECF para caracterizar el intercambiador aniónico $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (AE). La transferencia de un medio con $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ a otra solución amortiguadora libre de Cl^- produjo un aumento del pH citosólico (pHi). El agregado de ClNa 50 mM (concentración final) provocó la recuperación del pHi con una velocidad (en unidades de $\text{pH}/\text{seg} \cdot 10^{-4}$) de 9 ± 2 en el control y 0.5 ± 0.7 ($P < 0.02$) cuando se inhibió la anhidrasa carbónica con metazolamida 1 mM. Trimetilamina 25 mM provocó una alcalinización intracelular de la que se recuperaron con una velocidad de 8 ± 1 en el control y 5 ± 1 en metazolamida 1 mM ($P < 0.05$). El bloqueo del intercambio Na^+/H^+ con EIPA $2\mu\text{M}$ no afectó el efecto. En neutrófilos alcalinizados por lavado del CO_2 , la reintroducción de ClNa en presencia de EIPA redujo el pHi con una velocidad de 6.6 ± 0.2 en el control y de 12 ± 1 ($P < 0.05$) con el agente quimiotáctico fMLP $0.1\mu\text{M}$. Se concluye que en los neutrófilos el AE está asociado funcionalmente a anhidrasa carbónica sugiriendo la existencia de un metabolon que agrupa ambos sistemas, como se ha descrito para otras células. Además se demuestra que el fMLP, que activa el intercambio Na^+/H^+ frente a una sobrecarga ácida, también es capaz de activar directamente el AE frente a sobrecargas alcalinizantes.

SISTEMA CARDIOVASCULAR

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

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

2. Participación del canal de Ca^{2+} receptor de rianodina (RyR2) del retículo sarcoplasmático (RS) cardíaco en el acondicionamiento isquémico (PC). ¹Becerra R, ¹Said M, ²Sánchez G, ²Donoso P, ¹Mundiña-Weilenmann C, ¹Mattiazi A, ¹Vittone L. ¹Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CONICET-LaPlata, UNLP, Argentina, ²ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

El PC activa mecanismos cardioprotectores que aún no están bien establecidos. Un incremento de $[Ca^{2+}]_i$ breve y transitorio, durante el PC se ha propuesto como disparador de la cardioprotección. En este trabajo estudiamos la posibilidad de que el RyR2 esté involucrado en este incremento de $[Ca^{2+}]_i$. Corazones perfundidos de rata (Langendorff) fueron sometidos a 5/1 min de isquemia/reperfusión, un protocolo que induce PC, donde se midió: "binding" de $[^3H]$ -ryanodina, fosforilación de los sitios de RyR2 CaMKII-dependientes, S-glutationilación del RyR2 y actividad de NADPH oxidasa en membranas aisladas de RS de esos corazones. Encontramos un aumento de aproximadamente 100% en la S-glutationilación del RyR2 en PC comparado con corazones controles (C), sin cambios en la fosforilación del residuo CaMKII-dependiente P-Ser2815 de RyR2. El PC aumentó el "binding" de $[^3H]$ -ryanodina desde 0.15 ± 0.03 , $n=9$ (C) a 0.32 ± 0.02 , $n=7$ (PC) pmol/mg proteína y la actividad de NADPH oxidasa desde 2.1 ± 0.8 , $n=17$ (C) a 4.4 ± 2.2 , $n=6$ (PC) nmol O_2^- /mg proteína/min. Estos resultados sugieren que el PC aumenta la actividad del RyR2 por modificaciones redox, sin cambios en la fosforilación CaMKII-dependiente del RyR2. Este aumento de la actividad podría explicar el breve y transitorio incremento de $[Ca^{2+}]_i$ durante el PC.

PICT 26117- Fondecyt 1080497, 1080481.

3. Variabilidad de la frecuencia cardíaca (vfc) durante vigilia y el sueño del gato. Brando, V. Maccio, M. Gutierrez, M. Benedetto, L. Torterolo, P. Falconi, A. y Migliaro, ER. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en el mundo. Muchas de estas patologías se manifiestan durante el sueño que provoca importantes cambios en la fisiología cardiovascular, en general relacionados con la función autonómica. Esta última puede ser valorada a nivel cardíaco mediante la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (VFC), tanto a través de índices estadísticos (media; desvío estandar normal-normal, SDNN; y raíz cuadrada del desvío estandar, rMSSD) como espectrales (bandas de baja frecuencia, LF; y de alta frecuencia, HF) de los intervalos R-R.

En el presente trabajo estudiamos la VFC durante el ciclo sueño-vigilia del gato adulto. Los animales ($n=3$) fueron implantados con electrodos para registros polisomnográficos. Estos se realizaron en sesiones experimentales de 4 horas durante las cuales también se realizó un electrocardiograma. Los resultados mostraron un aumento significativo del intervalo en sueño REM en comparación con la vigilia. A su vez, el SDNN y el rMSSD aumentan durante el sueño REM en comparación con la vigilia. Por otra parte, la relación HF/LF de la VFC aumento significativamente durante el sueño REM y NREM comparado con la vigilia.

Este estudio permite establecer la VFC basal del gato durante los distintos estados comportamentales para futuros estudios fisiológicos y farmacológicos.

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

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

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

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

6. Evolución de la hipertrofia cardíaca (HC) en modelos combinados de hipertensión arterial (HTA) renovascular (RV) y Doca-sal (DS): interrelación con el comportamiento hormonal y funcional. Cerrudo CS¹, Rodríguez Fermepin M¹, Matorra F², Rey Deutsch AC², Tobler S¹, Saucedo SL¹, Cavallero S¹, González GE², Hertig CM³, Gelpi RJ², Fernández BE¹. ¹Cátedra de Fisiopatología, INFIBIOC, F. de Farmacia y Bioquímica, UBA ²Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, F. De Medicina, UBA ³INGEBI-CONICET.

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

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

Se compararon las respuestas mecánico-calorimétricas de dos modelos de I/R en rata (rt) y cobayo (cb). Se midieron la presión

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

8. Cambios en la $[Ca^{2+}]$ mitocondrial (Mit) y citosólico y su costo energético en el miocardio de rata expuesto a cardioplegia de alta $[K^+]$. ¹Consolini A, ²Bonazzola P, ³Ruiz-Meana M, ³García-Dorado D. ¹Fac.Cs. Exactas UNLP, ²Inst. Invest. Cardiológicas UBA-CONICET, Argentina. ³Instituto de Recerca, Cardiología, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, España.

La cardioplegia-alta $[K^+]_o$ (CPG) aumenta el metabolismo basal durante el paro diastólico. En cardiomiocitos de rata estudiamos si la CPG altera las $[Ca^{2+}]_m$ y $[Ca^{2+}]_i$; y el m, y si existe una relación Mit-RS utilizando tapsigargina 5 μ M (Tpg). Se midieron las fluorescencias relativas (FI) de Rhod-2, Fura-2 y JC-1 en un sistema confocal. La CPG aumentó la FI de Rhod-2 y Fura-2, con caída exponencial ($t_{1/2}$ (s): 215.2 ± 20.4 y 91.7 ± 5.3 , respect.) sin modificar la FI de JC-1. Tpg en CPG aumentó a 1.7 ± 0.3 la FI de Rhod-2, sin afectar la de Fura-2. Buscando la correlación energética, corazones aislados de rata se perfundieron con CPG en un calorímetro detectando los cambios en flujo de calor (Hr) y presión de reposo (LVEDP). Tpg 1 μ M aumentó LVEDP ($+8.1 \pm 1.4$ mmHg) a los 15min y disminuyó Hr (-0.47 ± 0.08 mW/g). La adición de 5 μ M KB-R7943 elevó más LVEDP ($+12.62 \pm 2.31$ mmHg) y mantuvo el Hr (-0.57 ± 0.12 mW/g). Los resultados sugieren que: a) CPG aumenta el Ca^{2+} citosólico y mitocondrial sin cambios en el $\Delta\psi_m$; b) parte del Ca^{2+} mitocondrial es transferido al RS vía SERCA y a los miofilamentos; d) el gasto energético neto reducido sugiere caída de la actividad Mit Ca^{2+} -dependiente. UNLP-X513, PIP6024/05.

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

Las metaloproteasas de la matriz (MMP) son gelatinasas que han sido involucradas en el daño por isquemia/reperusión. Sin embargo, no es conocido el efecto del poscondicionamiento (Pos-con) sobre la actividad de MMP-2. Objetivo: Evaluar el efecto del Pos-con sobre la actividad de MMP-2 y su relación con el tamaño de infarto. Se utilizaron corazones aislados de conejos sometidos a 30 min de isquemia global seguida de 120 min de reperusión (R) (Grupo 1: G1). En el grupo 2 (G2) se repitió G1 pero se realizó al inicio de la R dos ciclos de reperusión/isquemia (30 seg cada uno, Pos-con). En el grupo 3 (G3), se repitió G1, pero durante los primeros 2 min de la R se administró doxiciclina. Se tomaron muestras de efluente coronario para medir actividad de MMP-2 en situación basal y a los 2, 5 y 30 min de la R. Se midió el tamaño de infarto utilizando trifenil tetrazolium. El infarto fue de 16.21.2 en G1 y se redujo a 5.60.9 y 4.90.9 en G2 y G3, respectivamente ($p < 0.05$). El pos-con disminuyó significativamente la actividad de MMP-2 a los 2 min ($G1=88.212$, $G2=38.28$, $p < 0.05$); y a los 5 min de R ($G1=63.713$, $G2=27.310^*$, $p < 0.05$). La administración de doxiciclina abolió completamente la actividad de MMP-2. Conclusiones: El Pos-con reduce el tamaño de infarto y atenúa la actividad de MMP-2, durante la reperusión. Nuestros datos sugieren que la MMP-2 podría estar involucrada en el mecanismo de protección del Pos-con.

10. Anticuerpos funcionales contra el cotransportador Na^+/HCO_3^- electrogénico: ¿futura herramienta terapéutica?

De Giusti VC, Villa-Abrille MC, Chiappe de Cingolani GE, Alvarez BV, Aiello EA. Centro de Investigaciones cardiovasculares. CCT-CONOCET La Plata. UNLP.

El cotransportador Na^+/HCO_3^- (NBC) regula el pH intracelular (pH_i). En el corazón existen dos isoformas del NBC, una electroneutra (NBC3) y otra electrogénica (NBC1). En el presente trabajo generamos anticuerpos moduladores de función (Ac) dirigidos contra los dominios extracelulares 3 (Acd3) y 4 (Acd4) del NBC1 cardíaco. Se utilizaron miocitos ventriculares de gato. Los Ac reconocieron al NBC1 por W-B y en preparados inmuno-histoquímicos (microscopía confocal). La actividad total del NBC se estudió por epifluorescencia realizando pulsos de amonio (se calcula el flujo de H^+ (J_H , mM/min) a pH_i 6.8 tras inducir una acidosis) y la específica del NBC1 mediante una despolarización celular (pulsos de K^+ , ΔpH_i). El pulso de K^+ generó un aumento de pH_i de 0.18 ± 0.006 ($n=5$) que fue abolido con el Acd3 (0.016 ± 0.019 ; $n=5$, $p < 0.05$). Este Ac disminuyó un 50% el J_H (0.59 ± 0.08 vs 1.32 ± 0.19 ; $n=5$, $p < 0.05$). Sorpresivamente, el Acd4 generó un aumento del pH_i en los pulsos de K^+ de 0.25 ± 0.018 ($n=6$, $p < 0.05$) y un J_H de 2.27 ± 0.29 ($n=6$, $p < 0.05$), ambos mayores al control. Concluimos que ambos Ac son capaces de reconocer al

NBC1, pero que son funcionalmente opuestos: el Acd3 es inhibitorio y el Acd4 excitatorio. El empleo de estos anticuerpos es relevante para el estudio selectivo del NBC1 en la fisiopatología cardíaca y abre un camino para su potencial uso como herramienta terapéutica.

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

El objetivo fue estudiar los efectos del (PCI) y de adenosina en los primeros minutos de la reperfusión sobre la morfología del potencial de acción (PA) y las arritmias de reperfusión (AR). Ambas estrategias son cardioprotectoras contra la injuria por isquemia/reperfusión, pero se desconoce su rol sobre las variables electrofisiológicas. Corazones aislados de rata, perfundidos con solución de Krebs-Henseleit (KH), fueron sometidos a 10min de isquemia regional. En los primeros tres minutos de la reperfusión, se agregó adenosina 10 μ M (Ado10, n=10), 100 μ M (Ado100, n=9) o se realizó PCI mediante tres ciclos de 30seg de reperfusión y 30seg de isquemia (n=11) y se comparó contra reperfusión control (C, n=13). Los promedios fueron analizados estadísticamente por ANOVA y las AR mediante χ^2 . Ado100 fue la única intervención que disminuyó la incidencia de las AR (3 de 9), lo que al ser comparado con C (11 de 13) mostró una $p < 0.01$. Esto se asoció a una disminución de la frecuencia cardíaca (de 298 \pm 22 a 80 \pm 23 lat/min) y a un acortamiento del PA (de 50.8 \pm 6.2 a 17 \pm 3.3ms) en la reperfusión (ambas $p < 0.05$). El PCI revirtió 5 de 9 corazones que hicieron arritmias ($p < 0.05$) comparado contra C donde sólo lo hizo 1 de 11. El PCI retrasó la generación del PA 12.6 \pm 1.7ms ($p < 0.05$). La cardioprotección de Ado100 se explicaría por los cambios electrofisiológicos antes descriptos, mientras que la mayor reversión observada mediante el PCI podría atribuirse a su efecto sobre el pH descripto por otros autores.

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

En experimentos previos describimos el rol beneficioso de las fosforilaciones dependientes de CaMKII, específicamente del sitio Thr¹⁷ de fosfolamban (PLN), proteína reguladora del secuestro de Ca²⁺ por la Ca-ATPasa del RS, sobre la recuperación del Ca²⁺ y la contractilidad en el AM en roedores. Mamíferos más grandes pueden darnos una información más relevante sobre los mecanismos del AM, ya que el manejo del Ca²⁺ en estos animales es similar al del miocardio humano. Se estudió el rol de la CaMKII en el AM en corazones perfundidos conejo (Langerdorff), sometidos a isquemia/reperfusión (15/30min). La contractilidad durante la reperfusión (R), fue significativamente menor respecto a los valores pre-isquémicos (PI) (Presión desarrollada, 56.7 \pm 3.6 (R 30min) vs 86.6 \pm 3.8 (PI) mmHg, n=5). La fosforilación del sitio Thr¹⁷ de PLN aumentó significativamente al minuto de R (159 \pm 32.9% del control, n=6), evidenciando un aumento en la actividad de CaMKII. La inhibición de CaMKII (KN-93), aumentó significativamente la recuperación mecánica durante R con respecto a los corazones no tratados. La mayor diferencia ocurrió al minuto 15 de R: 74.8 \pm 10.3 vs. 50.5 \pm 3.8, n=4-5. **Conclusiones:** A diferencia de lo que sucede en roedores, la actividad de CaMKII resulta perjudicial para la recuperación del corazón atontado de conejo, especie en la que el manejo de Ca²⁺ es similar al del corazón humano.

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

En hidrolizados proteicos de amaranto (HPA) determinamos actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y el efecto sobre presión arterial media (PAM) en ratas SHR conscientes. Con grados de hidrólisis de 45 y 65% los HPA inhibieron la ECA "in Vitro" en aproximadamente 80%. En SHR los HPA descendieron significativamente la PAM desde 148 \pm 4 a 115 \pm 4,5 mmHg con una concentración de 1g/Kg y desde 147 \pm 5 a 91 \pm 6 mmHg para una concentración de 1,5 g/Kg. En anillos de aorta (AA) aislados, los HPA produjeron disminución de la respuesta máxima a la noradrenalina (0,01 mM), así como aumento significativo de la EC₅₀. En músculos papilares (MP) de SHR los HPA deprimieron no significativamente la contracción y la (dF/dt). En ratas SHR anestesiadas los HPA (1,5g/Kg) produjeron un discreto pero significativo aumento del VM de un 7% con respecto al valor basal. Concluimos que los HPA inhibieron la ECA "in vitro" y su administración intragástrica directa disminuyó la PAM en SHR. Los efectos inhibidores sobre la ECA pueden llevarse a cabo sobre el sistema renina-angiotensina circulante y también local como lo demuestran los experimentos "in vitro". El intenso efecto vasodilatador de los HPA sobre AA unido al efecto discreto o nulo sobre MP y VM sugiere que el efecto hipotensor "in vivo" se debería a la acción sobre la resistencia periférica.

14. Contracción inducida por calcio en arteria umbilical humana perfundida: estudio mecánico y fluorométrico.

García MH, Egido P, Gonzalez DA. Cátedra de Biofísica. Facultad de Odontología. UBA.

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

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

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

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

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

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

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

17. Evaluación de la mortalidad en ratones con sobreexpresión del receptor At1. Matorra LF¹, Rey Deutsch A¹, Casanova V², Cicale E², Lightowler C¹, Pidal G¹, Morales C¹, Basso N¹, Gelpi RJ¹. ¹: Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, ²: Facultad de Veterinaria. Universidad de Buenos Aires.

La mayor activación del receptor AT1 (RAT1) y su sobreexpresión cardíaca incrementa la mortalidad. Sin embargo, no se conocen las señales involucradas. Objetivo: Determinar si la sobreexpresión del RAT1 asociado a desacople de la proteína G

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

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

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

19. Nuevos métodos para evaluar la variabilidad de la frecuencia cardíaca (vfc). Migliaro, ER³; Guzik, P¹; Piskorski², J; Contreras P³. ¹Depto. de Cardiología Universidad de Ciencia Médicas, Poznan, Polonia. ² Inst. de Física Universidad de Zielona Góra, Polonia ³Depto. de Fisiología. Facultad de Medicina (UDELAR) Montevideo, Uruguay.

El ritmo cardíaco es variable al igual que otras oscilaciones biológicas. Una amplia VFC se relaciona con la normalidad, mientras que en la diabetes y otras patologías, la VFC está reducida. Analizamos dos nuevas formas de evaluar la VFC en sujetos normales y pacientes diabéticos tipo 1. En cada sujeto se obtuvo un registro de ECG de 10 min y otro de 24 h, en los que se midieron los intervalos RR y se calculó su desvío estándar (SDNN). Mediante el método de "Phase Rectified Signal Averaged" (Bauer 2006) se estudiaron la capacidad de desaceleración (DC) y la de aceleración (AC). Además, se estimó la "Heart Rate Assymetry" (Guzik 2006) mediante cuatro parámetros ($SD1_d^2$, $SD1_a^2$, C_d y N_d) derivados del análisis del gráfico de Poincaré. Los pacientes diabéticos tenían reducido el SDNN, DC, AC y $SD1_d^2$ ($p < 0.05$) en 10 min y en 24 h. El $SD1_a^2$ disminuyó sólo en 10 min ($p=0,01$) mientras que la C_d sólo en 24 h ($p=0,003$) y N_d en ninguno de los registros. Estas respuestas podrían estar relacionadas con el control autonómico del corazón y su análisis permite proponer que la magnitud de los cambios es más importante que el número de eventos, elementos de importancia para elaborar hipótesis de control cardiovascular.

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

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

21. Interacción física y funcional de la anhidrasa carbónica con la isoforma electrogénica NBC1 del cotransportador $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cardíaco. Orłowski A, De Giusti VC, Álvarez BV, Aiello EA. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. CCT-CONICET La Plata. UNLP.

El cotransportador $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ (NBC) participa de la regulación del pH intracelular (pH_i) cardíaco. Nosotros proponemos que la isoforma electrogénica del NBC denominada NBC1 forma un complejo físico/funcional con la anhidrasa carbónica (AC). En western-blots (WB) de homogenato de corazón de rata (HCR) encontramos expresión de 4 isoformas de la AC (ACII, ACIV, ACIX y ACXIV) y del NBC1. ACII, ACIV, ACIX y ACXIV coimmunoprecipitaron con NBC1 en HCR, sugiriendo interacción física. La actividad del NBC1 se midió con epifluorescencia en miocitos ventriculares de rata, sometidos a una despolarización celular mediante la elevación del K^+ extracelular (pulso de K^+). Los datos se expresan como aumento de unidades de pH_i a los 10 min del pulso de K^+ ; * indica $p < 0,05$. El pulso de K^+ indujo un aumento del pH_i de 0.14 ± 0.04 ($n=3$) que fue anulado por un anticuerpo funcional contra el NBC1 (0.016 ± 0.023 , $n=5^*$). La interacción funcional entre NBC1 y AC se estudió con los bloqueantes de la AC, etoxizolamida (ETZ) y benzolamida (BZ). El incremento de pH_i control (0.165 ± 0.017 , $n=11$) fue inhibido por ETZ $100 \mu\text{M}$ (0.053 ± 0.014 , $n=7^*$) y BZ $100 \mu\text{M}$ (0.090 ± 0.025 , $n=6^*$). Estos resultados demuestran la presencia en miocitos cardíacos de una interacción física y funcional del NBC con la AC, sugiriendo que ambas proteínas funcionan acopladas formando un metabolón.

22. Uso de diagramas dinámicos de Markov en la enseñanza de electrofisiología. Puglisi, J.L. Bers, D.M. Department of Pharmacology University of California Davis.

La característica principal de un canal iónico es la corriente que fluye a través del mismo. Esto ocurre cuando el canal entra al estado abierto; sin embargo la mayor parte del tiempo el canal transiciona entre estados cerrados e inactivados, como lo revelan las bajas probabilidades de apertura. Focalizándonos únicamente en la corriente estamos perdiendo gran parte de la actividad del canal. Para obtener una mejor idea del comportamiento global de este sistema hemos desarrollado un programa MarkoLAB que representa el diagrama de estados del canal iónico como un gráfico en 3D donde cada estado está representado por una columna cuya altura es proporcional al nivel de ocupación de ese estado. Durante una simulación de "voltage clamp" los cambios en la probabilidad de apertura se pueden observar como variaciones en la altura de esa columna. Este diagrama dinámico proporciona una información más completa del comportamiento del canal e ilustra la naturaleza estocástica de las transiciones. MarkoLAB fue desarrollado en el lenguaje LabVIEW y las transiciones estocásticas fueron simuladas usando el método de MonteCarlo. Esta nueva forma de representación constituye una poderosa herramienta para investigar efectos de mutaciones genéticas o drogas en la actividad del canal iónico y una ayuda invaluable para transmitir conceptos básicos de electrofisiología a los alumnos.

23. Evidencias mecánico-energéticas del rol mitocondrial en la cardioprotección (CP) cardiopléjica de rata. Ragone, M.I. y Consolini, A.E. Cátedra de Farmacología, Dpto Cs. Biológicas, Facultad de Cs Exactas, Univ Nac. de La Plata (UNLP), Argentina.

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

24. Efectos del tratamiento con vitamina E y ácido lipoico sobre el síndrome metabólico por ingestión de fructosa en las ratas. Reyes Toso, CF; Wallinger, M; Ricci, CR; Rosón M; Balzer, R; Reyes Toso, ML; Linares LM. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. UBA.

Estudios previos demostraron que animales con síndrome metabólico por ingestión crónica de fructosa (SM) presentan una relajación vascular disminuida. En este trabajo se estudiaron los efectos de la administración prolongada de Vitamina E (VE) y ácido lipoico (AL) sobre la reactividad vascular (RV) y algunas variables del SM. Las ratas se dividieron en dos grupos ($n=24$ c/u): a) dieta estándar DE-, b) DE+fructosa al 10% (F10%), y en subgrupos: 1-sin suplementos 2-VE $50\text{mg}/\text{día}$, y 3-AL $50\text{mg}/\text{día}$. Se controlaron: la presión arterial sistólica (PAS), glucemias y PTOG, triglicéridos y colesterol plasmáticos. Las ratas se sacrificaron

a las 15 semanas y se extrajo la aorta torácica, corazón e hígado, para evaluar la RV y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). La VE y el AL disminuyeron el incremento de triglicéridos y colesterol en el grupo con F10% ($p < 0.001$ y $p < 0.05$). Sobre los TBARS la reducción fue mayor con AL que con VE ($p < 0.01$ y $p < 0.05$); ANOVA multifactorial. La RV se evaluó "in vitro" en anillos de aorta incubados con glucosa o manitol 44mmol/l. La administración de VE y AL revirtió parcialmente la relajación acetilcolina-dependiente (Ach-d) disminuida de los anillos del grupo F10% ($p < 0.05$ y $p < 0.01$). Conclusión: la administración de VE y AL mejora algunas variables metabólicas y revierte la disminución de la relajación Ach-d, probablemente evitando la acumulación de anión superóxido.

25. Efecto del estiramiento sobre el desarrollo de fuerza en la arteria umbilical: rol del calcio extracelular. Roldán Palomo AR, Enrique N, Martín P, Rebolledo A, Milesi V. Grupo de Investigación en Fisiología Vasculard, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

El estiramiento de la pared vascular puede modificar la $[Ca^{2+}]_{intracelular}$ en las células de músculo liso que la forman y modificar así el estado contráctil del vaso. Se estudió la influencia del estiramiento sobre la respuesta contráctil en la arteria umbilical humana (AUH) midiendo el desarrollo de fuerza isométrico en anillos vasculares en respuesta a estímulos mecánicos variables. En diferentes anillos se aplicaron distintos estímulos de estiramiento inicial (0,5; 1; 2 y 3 g) en ausencia de Ca^{2+} y luego se agregó Ca^{2+} (2,5 mM) al medio extracelular. Esto produjo el desarrollo inmediato de una contracción con un valor de fuerza pico que luego se estabilizó en una fuerza menor; ambos valores aumentaron con el estiramiento. El mismo protocolo se realizó en presencia de sustancias inhibitoras de las estructuras que pueden mediar un influjo de Ca^{2+} en esta arteria: nifedipina 5 μ M (inhibe canales de Ca^{2+}), gadolinio 200 μ M (inhibe canales catiónicos) y KBR7943 5 μ M (inhibe el intercambiador Na/Ca en modo reverso). Se observó que solo el gadolinio anuló la relación existente entre fuerza y estiramiento, mientras que nifedipina y KBR7943 inhibieron la magnitud de la fuerza pero no alteraron su relación con el estiramiento inicial.

26. Participación del retículo sarcoplasmático (RS) y la proteína quinasa dependiente de Ca^{2+} y calmodulina (CaMKII) en las arritmias miocárdicas de reperfusión. Said M.; Vittone L.¹ Becerra R.; Mundiña-Weilenmann C.; Kaetzel M.,² Dedman J.R.; Mattiazzi A.

¹Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata CCT-La Plata Argentina. ²College of Medicine, Cincinnati, OH, USA

La reperfusión que sigue a un período de isquemia, predispone a la aparición de arritmias, cuyos mecanismos aún no están aclarados y son el objetivo de este trabajo. Corazones de rata/ratón perfundidos por la técnica de Langendorff, fueron sometidos a isquemia global, seguido de reperfusión (15-20/30min). Se midió simultánea o alternativamente potenciales de acción monofásicos (MAP) epicárdicos y la presión desarrollada por el ventrículo izquierdo. El comienzo de la reperfusión (primeros 3min) provocó la aparición de latidos ectópicos. El patrón arritmico observado se debió al menos en parte a posdespolarizaciones (tempranas y tardías), que en muchos casos culminaron en taquicardia o fibrilación ventricular. La aparición de latidos ectópicos disminuyó significativamente por el tratamiento con el inhibidor de la CaMKII, KN-93 (46 \pm 6 Control vs 11 \pm 3 KN-93) y por el inhibidor de la liberación de Ca^{2+} desde el RS, rianodina (46 \pm 6 Control vs 25 \pm 3 Ry). En experimentos realizados en ratones transgénicos con inhibición de la CaMKII a nivel de las membranas del RS (SR-AIP), se observó que las arritmias disminuyen significativamente. Sugerimos que las arritmias por reperfusión son, en parte, dependientes de la CaMKII y del RS. PIP 02139. Subsidio Fogarty #1 R03 TW007713-01

27. Muerte celular mediada por la quinasa Ca^{2+} calmodulina II (CaMKII) en el daño por isquemia/ reperfusión (I/R). Salas, MA.¹, Valverde, CA.¹, Sánchez, G.² Said, M.¹, Rodríguez, J.¹, Portiansky, EL.¹, Kaetzel, MA.³, Dedman, JR.³, Donoso, P.², Kranias, EG.³ and Mattiazzi, A.¹ Facultad de Ciencias Médicas y Veterinarias¹, La Plata, Argentina. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile². College of Medicine, Cincinnati, OH, USA³.

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

28. Cambios biomecánicos diferenciales de arterias elásticas, transicionales y musculares al ejercicio ergométrico máximo realizado por jóvenes sanos. Valls,G; Bia, D; Zócalo, Y; Torrado,J; Lluberás, S; Craiem,D; Armentano,R. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; Facultad de Ingeniería y ciencias exactas y Naturales, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina.

El estudio de diferentes indicadores, en condiciones basales y ante aumento de las demandas (Ej. prueba ergométrica graduada, PEG) da información complementaria en la evaluación cardiovascular (CV). Si bien se reconoce el rol de la biomecánica arterial en la fisiología y fisiopatología CV, su análisis en la evaluación CV es reciente e incluye solo estudios basales. Sujetos con propiedades basales normales pueden tener alterada la respuesta arterial al ejercicio, la que se evaluó en pocos estudios, con resultados controvertidos. Objetivos: a) caracterizar la biomecánica arterial regional y local, y su perfil temporal en respuesta a la PEG durante la recuperación y b) comparar la respuesta de diferentes territorios arteriales a la PEG. Métodos: En 16 jóvenes sanos, no entrenados se evaluó la velocidad de la onda de pulso carótido-femoral y la distensibilidad (ecografía) carotídea, femoral y braquial antes y post-PEG. Resultados: La PEG se asoció a cambios de la rigidez arterial evidenciado por parámetros locales y regionales. Hubo diferencias cuali-cuantitativas en los cambios en rigidez local cuando se analizó conjuntamente las diferentes arterias y etapas post-ejercicio. Los cambios arteriales asociados al ejercicio no se explican solo por variaciones en la presión arterial. Conclusiones: La PEG se asoció a cambios en la rigidez arterial. El estudio de la respuesta arterial al ejercicio podría dar información adicional en la estratificación y diagnóstico CV.

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

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

30. Rol del receptor tirosina quinasa erbb2 en la cardiomiopatía hipertrófica dilatada. Cecilia Vasti, Susana Cavallero, Hernán García Rivello and Cecilia M. Hertig. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular INGEBI.

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

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

La CaMKII, las especies reactivas del oxígeno (ROS) y la Angiotensina II (AngII) están asociadas con la apoptosis cardiaca. Para evaluar si estas moléculas están relacionadas en una única vía de señalización o si constituyen diferentes cascadas en dos especies en donde la AngII tiene efectos inotrópicos opuestos, cultivamos miocitos aislados de gatos y ratas por 24 hs \pm 1 μ M AngII. La AngII indujo 1) \approx 40% de mortalidad celular, en parte por apoptosis (10.1 \pm 0.1% de células TUNEL positivas y 57.9 \pm 17% de aumento en la actividad caspasa-3), 2) aumento del 42 \pm 9% en la actividad de CaMKII y, 3) aumento en la producción de ROS. No se observaron cambios en el Ca^{2+} , ni al comienzo ni al final del cultivo. El bloqueo de los receptores de IP₃ no previno la muerte celular inducida por AngII. La quelación del Ca^{2+} con BAPTA-AM no pudo prevenir el aumento en la fosforilación de CaMKII inducida por AngII o por H₂O₂, así como la muerte celular. Los resultados indican una única cascada apoptótica inducida por AngII para ambas especies en donde novedosamente los ROS reajustan los niveles de Ca^{2+} necesarios para la activación de CaMKII a valores subdiastólicos.

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

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

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

La inhibición de la fosfodiesterasa 5A (PDE5A) disminuye la actividad del NHE1 por un mecanismo aún no conocido. Nuestro objetivo fue determinar la vía de señalización intracelular involucrada en dicha inhibición en miocitos cardíacos aislados de gato. La actividad del NHE1 (J_{H^+} , mmol/L/min) se determinó durante la recuperación del pH intracelular luego de una carga ácida en ausencia de bicarbonato. La inhibición de PDE5A con SIL (1 μ mol/L) o EMD3605227/5 (0.1 μ mol/L) disminuyó el J_{H^+} de 2.15 \pm 0.18, n=10 (control) a 1.24 \pm 0.17, n=10 y a 1.31 \pm 0.16, n=6 (P<0.01) respectivamente. La inhibición de PKG con KT5823 (1 μ mol/L) y de PP1 y PP2A con ácido okadaico (OKA) 100nmol/L revirtió el efecto de SIL (J_{H^+} : 2.13 \pm 0.27, n=12 y 2.97 \pm 0.39, n=10, respectivamente). Inhibiendo solamente la PP2A con OKA 1 nmol/L o endothall (inhibidor específico de PP2A, 100 μ mol/L) no se modificó el efecto de SIL (1.34 \pm 0.21, n=12 y 0.94 \pm 0.16, n=10 respectivamente). La acidosis aumentó la fosforilación de ERK1/2, p90RSK y del NHE-1 (189 \pm 23 %, n=11, 187 \pm 17 %, n=11 y 128 \pm 9.5%, respectivamente, P<0.01 vs control). SIL no modificó la fosforilación de ERK1/2 y p90RSK (187 \pm 31 %, n=7, 201 \pm 30%, n=8, respectivamente), pero disminuyó la fosforilación del NHE1 (82 \pm 11.7%, n=8, P<0.01). Concluimos que la inhibición de PDE5A disminuye la actividad del NHE1 por una disminución de su fosforilación probablemente por activación de PP1.

SISTEMA ENDÓCRINO

1. Modulación de la activación de células T por hormonas tiroideas (HT) a través de la regulación de la isoforma α de su receptor (Tr α). Barreiro Arcos ML¹, Sterle H¹, Paulazo MA¹, Klecha AJ^{1,3}, Fariás RN², Cremaschi GA^{1,3}. CEFYBO-CONICET¹; INSIBIO-UNT-CONICET²; Lab. Radioisótopos, FFyB, UBA³.

Las HT ejercen acciones en el desarrollo, crecimiento y diferenciación celular y regulan la respuesta inmune mediante la inducción de mecanismos genómicos y no genómicos. Los mecanismos fisiológicos involucrados a nivel linfocitario aun no se conocen. En este trabajo analizamos los caminos de señalización involucrados en los efectos proliferativos de las HT en células T BW 5147. Tanto las HT libres (T3 y T4) como sus análogos acoplados a agarosa (T3-ag y T4-ag) estimulan la proliferación celular, aunque estas últimas en menor magnitud. Ambas, HT libres y T3- y T4-ag, inducen la activación de la PKC ζ río arriba de NF- κ B y de ERK, dado que el tratamiento con el pseudosustrato de PKC ζ bloquea la traslocación de NF- κ B al núcleo y la fosforilación de ERK. Las HT y HT-ag inducen la activación no genómica de NOS y el aumento (a las 12 hs de cultivo) de la expresión proteica y genómica del Tr α , el cual posteriormente retorna a niveles basales, lo que demuestra la existencia de una regulación negativa por HT. Estos resultados sugerirían que los efectos no genómicos y genómicos de las HT regulan la actividad linfocitaria T, involucrando la activación de quinasas y de NF- κ B que regularían la expresión iNOS y del propio receptor hormonal.

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

Previamente ha sido estudiada la actividad de la NADPH oxidasa en islotes pancreáticos de animales normales, aunque hasta el momento restaba esclarecer su efecto sobre la secreción de insulina en respuesta a diferentes secretagogos. En este trabajo estudiamos la actividad de NADPH oxidasa en islotes aislados de ratas normales y su efecto modulador sobre la secreción de insulina estimulada por diferentes secretagogos. Nuestros resultados muestran que islotes de rata incubados en presencia de glucosa (16.7 mM), ácido palmítico, ácido oleico y KCl incrementan significativamente la actividad de NADPH oxidasa con respecto a aquella medida frente a glucosa 3.3 mM. La incubación de islotes en presencia de estos secretagogos más el agregado al medio de un inhibidor de la NADPH oxidasa, el ioduro de difenilo (DPI) revierte el efecto estimulador.

Todos los secretagogos testeados incrementan la secreción de insulina sobre el nivel basal. El DPI disminuye significativamente la respuesta secretora de los islotes incubados frente a 16.7 mM de glucosa e incrementa la respuesta frente al ácido oleico y al KCl, sin afectar aquella inducida por el ácido palmítico y la arginina.

Estos resultados sugieren que la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) inducidos por NADPH oxidasa sería estímulo dependiente y jugaría un rol sobre el mecanismo de regulación de la secreción de insulina.

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

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

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

Objetivo: Estudiar el posible papel regulador del sistema endocanabinoide sobre los cambios endocrino-metabólicos inducidos por una dieta rica en fructosa (DRF). **Métodos y resultados:** identificamos en células insulares de rata los receptores CB1 (células α) y CB2 (células β y δ) (inmunohistoquímica y RT-PCR). Medimos secreción de insulina in vitro (RIA) en islotes incubados con diferentes concentraciones de glucosa y Anandamida, ACEA (agonista CB1) ó JWH (agonista CB2). La anandamida (10 μ M y 100 μ M) aumentó la secreción de insulina con glucosa 8.3mM y 16.7mM respectivamente (p<0.05). A 16.7mM glucosa, ambos agonistas (ACEA y JWH) aumentaron la secreción de insulina a 1 μ M (p<0.05) y la disminuyeron a

20 μ M ($p < 0.05$). En ratas alimentadas con DRF al 10% durante 21 días, registramos un aumento del consumo de calorías, del peso corporal, la glucemia, trigliceridemia, insulinemia y el índice HOMA-IR ($p < 0.05$) mientras que la administración simultánea de 2mg/rata/día Rimonabant (antagonista-CB1) corrigió estas alteraciones ($p < 0.05$). **Conclusión:** La presencia de CB1 y CB2 en el islote con un patrón de distribución celular definido permite la modulación de la secreción de insulina por el sistema endocanabinoide, mientras que su bloqueo in vivo corrige la mayoría de las anormalidades inducidas por la DRF.

5. Radical hidroxilo (HO \cdot) inducido por hiperglicemia conduce a apoptosis hepática. Nuevo efecto de insulina. Francés D¹, Ronco MT¹, Monti J¹, Ingaramo P¹, Pisani G², Parody J¹, Pellegrino J¹, Carrillo MC¹ y Carnovale Ce¹. ¹IFISE-CONICET. ²UNR

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

6. Ontogenia de las células ingap-positivas: relación con la masa β . Madrid V, Maiztegui B, Raschia MA, Flores LE, Borelli MI, Gagliardino JJ, Del Zotto H. CENEXA (UNLP-CONICET), La Plata

El INGAP (Proteína-Asociada-Neogénesis-Insular) participa en el crecimiento de la masa β en el animal adulto, pero se desconoce su papel durante la embriogénesis. Estudiamos la ontogenia de estas células en relación a la masa de células β . Utilizamos fetos de 11 (E11), 17 (E17) y 19 (E19) días de gestación y crías de una semana (P7) de ratas Wistar normales. Medimos glucemia (G), peso corporal (P) y del páncreas (PP); en este último realizamos estudios morfométricos. La G fue mayor en P7 (61,8 \pm 3,1 vs. 56,6 \pm 2,4 vs. 88,1 \pm 0,9). Los valores de P y PP aumentaron con la edad P (0,85 \pm 0,03 vs. 1,84 \pm 0,04 vs. 12,31 \pm 0,2 g), PP (1,70 \pm 0,1 vs. 3,68 \pm 0,1 vs. 24,07 \pm 1,1 mg). La masa celular β fue mayor en P7 (0,00586 \pm 0,0013 vs. 0,0241 \pm 0,0076 vs. 0,33 \pm 0,092); este aumento se debió al aumento significativo del número de células β por islote (55,1 \pm 5,3 vs. 36,5 \pm 8,6 vs. 147,1 \pm 66,7 células/islote), al aumento progresivo de la masa de células CK19-positivas (0,01 \pm 0,001 vs. 0,02 \pm 0,002 vs. 0,25 \pm 0,09 mg; $p < 0,05$) y a una disminución de la apoptosis (3,4 \pm 2,3 vs. 1,6 \pm 0,1%; $p < 0,05$). Las células INGAP-positivas aparecieron en E17 y su masa aumentó significativamente en P7 (0,044 \pm 0,02 vs. 0,01 \pm 0,002 vs. 0,15 \pm 0,06 mg). La aparición de células INGAP-positivas en el momento de diferenciación endócrina masiva sugiere que el INGAP participa en el control de la masa celular β .

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

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

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

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

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

La angiotensina II (AII), a través de los AT1-R ubicados en la lamina terminalis (LT), estimula la ingesta de agua y sodio, luego de una pérdida aguda de agua y sodio corporal. Asimismo, evidencias de nuestro laboratorio indican que la ovariectomía (OVX) altera dicha conducta ingestiva, así como la actividad cerebral (inmunoreactividad a Fos) en respuesta a una depleción inducida por furosemida y dieta baja en sodio (F/DBS). Considerando estas evidencias, el objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de la ovariectomía y del tratamiento agudo de F/DBS sobre la densidad de AT1-R cerebrales. La densidad de AT1-R se cuantificó por medio de un sistema de detección infrarroja de imágenes (Odyssey Imaging System). Se observó que en hembras en diestro (D) el tratamiento con F/DBS provocó un aumento de la densidad de AT1-R en el órgano vasculoso de la LT (OVLT) y en el núcleo preóptico mediano (MnPO); mientras que la densidad de dichos receptores disminuyó en el núcleo supraóptico (SON). Por otra parte la ovariectomía produjo una disminución de la densidad basal de AT1-R en el SON y una ausencia de respuesta a la depleción, mientras que en el OVLT se observó una inhibición del aumento inducido por F-DBS. Nuestros resultados sugieren la densidad de los AT1-R cerebrales estaría modulada diferencialmente por la depleción aguda de agua y sodio corporal y el estrógeno circulante. Subsidiado por ANPCyT y CONICET.

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

Previamente demostramos que ET1 disminuye la captación neuronal de NA en el HA a través del receptor ET_B. En el presente trabajo estudiamos las posibles vías intracelulares que median estos efectos.

Se usaron HA de ratas SD machos (250-300 g). La captación neuronal de NA se determinó in vitro durante 5 min en presencia o ausencia de ET1 y los inhibidores de diferentes intermediarios intracelulares. Ninguno de los inhibidores utilizados modificaron por se la captación neuronal de NA. Los resultados se expresan como % \pm ES (ANOVA y test de SNK; *p<0.05 y n:5-8).

Los resultados muestran que la inhibición de la captación 1 de NA producida por la ET1 10nM se bloqueó en presencia del inhibidor general de la óxido nítrico sintasa y de su isoforma neuronal (L-NAME10 μ M, ET-1:79.6 \pm 3.0vsET-1+L-NAME:103.1 \pm 6.5* y ET-1+7-NI: 102.2 \pm 5.6*, respectivamente). El inhibidor de la PKA, el H-89 también bloqueó el efecto de ET-1 (ET-1:79.3 \pm 3.1vsET-1+H.89:102.1 \pm 2.6*), mientras que el inhibidor de la PLC no modificó el efecto de la ET-1 (ET-1:78.0 \pm 1.1vsET-1+U73122:76.2 \pm 5.0).

Éstos resultados nos permiten concluir que en el HA la disminución de la captación neuronal de NA producido por la ET1 es a través de la vía del óxido nítrico y de AMPc/PKA.

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

Es conocido que la actividad de la TH se regula por complejos mecanismos entre los que se incluye el calcio. En el presente trabajo estudiamos el papel de los mecanismos calcio dependientes en el incremento a largo plazo producido por las ETs sobre la TH en el BO de ratas normotensas.

Los tejidos se incubaron con ET-1 y ET-3 durante 240 min. en presencia y ausencia de la ET-1 y ET-3 (10 pM) y de los diferentes

expensas de un aumento de la sensibilidad a la insulina.

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

INGAP (Islet-Neogenesis-Associated-Protein) es una proteína del páncreas de hámster perteneciente a la familia Reg no encontrado en otras especies, y un pentadecapéptido del INGAP (INGAP-PP) reproduce el efecto biológico de la molécula intacta. **Objetivo:** Identificar INGAP o alguna proteína similar en páncreas de rata. **Metodología:** Analizamos la secuencia del ADNc y proteína del INGAP con los programas Blast y Clustal-W2. Determinamos la localización inmunohistoquímica del INGAP en páncreas de rata y hámster. Amplificamos y secuenciamos el ADNc insular y pancreático de ambas especies por RT-PCR utilizando cebadores específicos para INGAP (hámster), Reg3 β (rata) y un tercer par (DegRI) capaz de reconocer ambos ADNc. Resultados: INGAP y Reg3 β mostraron una homología del 68% (ADNc) y 58.5% (proteína). Los cebadores de Reg3 β y DegRI amplificaron en ambas especies mientras que los de INGAP sólo en hámster. El fragmento obtenido con los cebadores DegRI en rata presentó un 94% de homología con Reg3 β y 64% con INGAP. En ambas especies detectamos (inmunohistoquímica), células insulares no β que se tiñeron con un anticuerpo de INGAP cuyo epítopo antigénico presenta una homología del 84% entre INGAP y Reg3 β . Conclusión: Estos resultados y la alta homología de INGAP-PP con Reg3 β (85%) sugieren la coexistencia de ambas proteínas en el páncreas de hámster pero solo de Reg3 en la rata.

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

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

SISTEMA NERVIOSO

1. Asimetría en la modulación de la transmisión noradrenérgica por endotelinas exógenas en el hipotálamo anterior de ratas DOCA-Sal. Abramoff T, Guil MJ, Nabhen S, Hope S, Bianciotti L y Vatta M. Cátedras de Fisiología (IQUMEFA-CONICET) y Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

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

inhibidores de los mecanismos dependientes de calcio. La actividad de TH se determinó por método radioenzimático de Reinhard y col (Life Sci. 1986). Los resultados muestran que ET-1 y ET-3 10 pM, incrementan la actividad de TH (44% y 52% vs. control, respectivamente). Por su parte, se observó que ni el antagonista del receptor de IP_3 (2-APB), ni el inhibidor de la IP_3 quinasa (LY-294002) modificaron la respuesta a las ETs, mientras que el inhibidor de los canales de calcio sensitivos a Rianodina (Dantrolene) modificó el efecto de ambas ETs sobre la actividad de TH. Los resultados nos permiten concluir que a largo plazo el incremento de la actividad producido por las ETs son mediados por los canales Rianodina sensitivos.

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

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

7. Relación entre el tiempo de reacción psicomotora y la actividad autonómica cardíaca en distintos turnos de trabajo Introducción Vigo D.E.^{1,4}, Díez J.², Rigters S.¹, Rogier K.¹, Pérez Chada D.², Cardinali D.P.^{3,4} ¹Universidad de Buenos Aires; ²Universidad Austral; ³Universidad Católica Argentina; ⁴CONICET.

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

8. Efecto de una dosis única de melatonina sobre regímenes estándar de anestesia en ratas. Zacharewicz L; Iodice O; Cervino C. Fac. de Medicina, Univ. de Morón.

Diferentes fármacos inyectables han sido utilizados como anestésicos: pentobarbital, tiopental (TP), ketamina (CK), diazepam (DP) y xylacina. **Objetivo:** evaluar la melatonina (ML) sola y en combinación como agente de inducción anestésico en ratas. **Hipótesis:** la premedicación con ML puede disminuir la dosis necesaria de anestésicos estándar. Acciones y profundidad anestésica evaluadas como: a) pérdida reflejo enderezamiento (RE) = tiempo inducción anestésica (TIA); b) pérdida reflejos de retirada (RR) = tiempo de plano anestésico (TPA); c) recuperación RR = tiempo duración anestesia (TDA); d) recuperación RE = tiempo recuperación total (TRT). **Protocolo:**

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

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

SISTEMA ÓSEO

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

La intoxicación crónica con aluminio (Al) afecta la síntesis de colágeno y la mineralización de la matriz ósea. La hipoxia conduce a hipertrofia de la médula ósea y deterioro de la competencia biomecánica del hueso. El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de la hipoxia hipobárica sobre la estructura y calidad biomecánica de la diáfisis femoral y el tejido óseo mandibular, como ejemplos de hueso apendicular y axial respectivamente, en ratas en crecimiento intoxicadas con Al. Ratas hembra al destete fueron inyectadas en dosis de 27mg de Al elemental por Kg, durante 3 meses 3 veces por semana. Ratas control fueron inyectadas con vehículo. La mitad de cada grupo fue mantenida en hipoxia. Los tratamientos por separado en fémur disminuyeron significativamente las propiedades materiales intrínsecas del hueso, e incrementaron el momento de inercia ($p < 0.01$), indicador geométrico de la eficiencia del diseño seccional. En las mandíbulas, todos los grupos experimentales aumentaron significativamente la rigidez ósea extrínseca, disminuyendo la capacidad de absorber energía elásticamente. Así, en las mandíbulas de los animales tratados con Al, se observó menor capacidad de soportar cargas sin observarse efecto sinérgico de ambos tratamientos. No se observaron variaciones arquitectónicas posiblemente debido a que a diferencia del fémur no debe soportar peso sino adecuarse a fuerzas masticatorias. UBACyT 0407.

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

Los osteoclastos (Oc) son células gigantes multinucleadas encargadas de resorber en hueso. Aparecen raramente en el hueso intacto pero aumentan en áreas de alto recambio óseo (plato de crecimiento, fracturas). En la diabetes mellitus se han descrito un incremento en el riesgo de fracturas. Nuestro grupo y otros demostramos que estas alteraciones podrían asociarse a la presencia de productos de glicación avanzada (AGEs) que alteran la función de los osteoclastos. Por otro lado los bisfosfonatos (BP) son drogas ampliamente usadas en enfermedades óseas, dado que inhiben la actividad resorptiva de los Oc. En este trabajo estudiamos el efecto de AGEs y BP sobre el desarrollo de Oc en cultivo. Se cultivaron macrófagos Raw264.7 y osteoblastos UMR106 (2-10 días) en presencia de diferentes dosis de BSA ó AGE-BSA (50-200g/ml), con o sin diferentes dosis (10^{-8} - 10^{-4} M) de alendronato. La actividad de Oc se evaluó a través de la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP). AGE-BSA agregado a los 4 días de desarrollo de Oc inhibieron (1030%) en forma dosis dependiente la TRAP. Bajas dosis de Alendronato (10^{-8} - 10^{-6} M) no indujeron efecto sobre la actividad de TRAP en presencia de (100g/ml) BSA ó AGE-BSA. Sin embargo, altos niveles de alendronato (10^{-5} - 10^{-4} M) inhibieron la TRAP en cultivos de 4 días de exposición a 100 g/ml BSA (20-25% inhibición) ó 100g/ml AGE-BSA (17% inhibición). No se observaron efectos aditivos de ambos agentes. La osteoclastogénesis fue más inhibida si los AGEs se agregan en los primeros días de desarrollo de Oc.

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

Previamente demostramos que la Metformina, un fármaco insulino-sensibilizante, ejerce efectos osteogénicos directos in vitro e in vivo. Dado que el proceso de modelado/remodelado óseo requiere un acoplamiento preciso entre su resorción y formación, en el presente trabajo evaluamos el efecto de la Metformina sobre la actividad osteoclástica. Para ello, se co-cultivaron osteoblastos de rata UMR106 con macrófagos de rata RAW 264.7 durante una semana, en presencia de concentraciones crecientes de Metformina (0-500M). Se dosó la actividad de TRAP (fosfatasa ácida tartrato resistente) en el lisado celular total, como marcador del número de osteoclastos funcionales. En otros experimentos se utilizaron ratas Sprague Dawley macho jóvenes, a las cuales se les realizó un defecto circular de 1mm en el hueso parietal derecho. Se les agregó o no Metformina en el agua de bebida (100mg/kg peso/día) durante 2 semanas. La actividad osteoclástica se evaluó cualitativamente mediante histoquímica para TRAP en cortes histológicos del defecto parietal. Las ratas tratadas con Metformina presentaron un incremento de células TRAP(+) multinucleadas en los bordes de la lesión y rodeando astillas óseas. En el co-cultivo, la Metformina (0-500M) aumentó la actividad TRAP en forma dosis respuesta (100-363% del basal). Estos resultados in vitro e in vivo muestran por primera vez una estimulación dosis-dependiente y directa de la Metformina sobre la actividad de osteoclastos. Un mayor reclutamiento y actividad de osteoclastos podría contribuir, en las primeras etapas de la reparación ósea, a acelerar la preparación de la superficie ósea lesionada para la futura acción osteogénica de los osteoblastos.

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

Los animales infantiles y jóvenes transcurren por periodos críticos durante el proceso de crecimiento y desarrollo influenciados, entre otros, por la malnutrición proteica. Estudios previos demostraron que la restricción proteica extrema reduce la resistencia y la rigidez de la diáfisis femoral en la rata. El propósito de este trabajo fue analizar el efecto de dietas isocalóricas conteniendo distinta concentración de proteína (P=Caseína, 51015-20%) suministradas a ratas de 30 días de edad, durante 60 días para establecer la dieta óptima que asegure un adecuado comportamiento mecánico. En el día 60 los fémures fueron sometidos a un test de flexión a 3 puntos, cargados centralmente a 10 N/min con el objeto de registrar las curvas carga (Q) deformación (d). Los huesos C5-10% mostraron menor resistencia a la flexión y rigidez diafisaria con respecto a C 1520%. Estas alteraciones se correlacionaron con modificaciones del área total, medular y cortical, deterioro del momento de inercia de la sección fracturaria (CSMI) y menor contenido mineral óseo (BMC) y densidad mineral ósea (BMD) determinados mediante absorciometría de doble haz de rayos X. Sin embargo no se afectó el stress elástico máximo (S_y), propiedad mecánica intrínseca del material óseo. Los grupos C 1520% no evidenciaron diferencias significativas en las variables biomecánicas estudiadas. La ausencia de diferencias entre ambos sugiere que una concentración dietaria de C15% es apropiada para asegurar un adecuado performance biomecánica. UBACYT 0 002

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

Se estudió en un modelo animal de desnutrición armónica (ED) el efecto de diferentes dosis de Propranolol (P) sobre la morfometría y biomecánica (test de flexión a tres puntos) del fémur. Ratas macho de la cepa Wistar de 21 días se dividieron en Control (C), C+P3.5 (CP3.5), C+P7 (CP7), C +P10.5 (CP10.5), C+P14 (CP14), ED, ED+ P3.5 (EDP3.5), ED+P7 (EDP7), ED+P10.5 (EDP10.5) y ED+P14 (EDP14). C con/sin P fueron alimentados ad libitum; ED con/sin P recibieron un 80% de la dieta de C (4 semanas; T4). P 3.5, 7, 10.5 y 14 mg/Kg/día fue inyectado ip por 4 semanas en CP3.5 y EDP3.5, CP7 y ED7, CP10.5 y EDP10.5 y CP14 y EDP14, respectivamente. La restricción global afectó negativamente el crecimiento corporal ($p < 0.001$), del fémur ($p < 0.05$) y las propiedades estructurales y geométricas óseas ($p < 0.001$). Ninguna dosis de P modificó los parámetros morfo-antropométricos. A 3.5 y 14 mg/Kg/día, P no previno los efectos negativos del estrés nutricional sobre la aptitud mecánica. P mejoró la competencia biomecánica ósea en ED con 7 y 10.5 mg/Kg/día, con un máximo de respuesta a 7mg/kg/día ($p < 0.001$). Se sugiere que la eficacia intrínseca diferencial del P sobre la competencia mecánica ósea del ED sería resultado de la interacción ligando-receptor-cascada de señalización intracelular y/o de la regulación de receptores β -adrenérgicos, efectos dosis-dependientes. UBACYT 0004.

SISTEMA RENAL

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

El factor de transcripción NFATc3, regulado por Ca^{2+} /calcineurina modula la expresión de acuaporina 2 (AQP2) en las células de los túbulos colectores renales. El óxido nítrico (NO) también está implicado en la regulación de AQP2. En este trabajo investigamos si el NO afecta la regulación mediada por NFATc3 del promotor de AQP2. Se cotransfectaron células MDCK con un plásmido reportero de luciferasa que contiene el promotor de AQP2 y con un plásmido reportero renilla luciferasa (control interno). Las células se trataron durante 24hs con Ionomicina (Io 1 μ M, ionóforo de calcio, activador de NFATc) y acetato de miristato forbol (PMA100 nM, activador de AP-1, cofactor de NFATc) en presencia o ausencia de un dador de NO (NONOato 0,1mM) y con o sin ciclosporina A (CsA 1 μ M, inhibidor de calcineurina) u ODQ (10 μ M, inhibidor de la guanilil ciclasa soluble). La actividad del promotor de AQP2 aumentó en las células tratadas con Io + PMA (2.072 \pm 0.072*) y aumentó aún más con el agregado de NONOato (2.797 \pm 0.168**). Este aumento adicional fue bloqueado previa incubación con CsA (1.966 \pm 0.138**) u ODQ (2.010 \pm 0.072**). * $p < 0.05$ vs. Control=1.000 \pm 0.019, # $p < 0.05$ vs. NO+Io+PMA, $\dagger p < 0.05$ vs. Io+PMA. El dador de NO no tuvo efecto per se. En las células MDCK transfectadas, el NO a través del GMPc, activaría al promotor de AQP2 sinérgicamente con Io+PMA. Es posible que el NO incremente el ingreso de NFATc3 al núcleo o reduzca su salida, potenciando así el aumento de la actividad del promotor de AQP2 producido por NFATc3.

2. La dieta hipersódica induce la expresión de marcadores de hipoxia y fibrosis renal en ratas normales, asociada al estrés oxidativo. Cao[†] G, Rosón MI*, Della Penna* S, Gorzalczany S*, Pandolfo M*, Cerrudo C*, Toblli JE[‡], Fernández BE*. *F de Farmacia y Bioquímica-INFIBIOC (UBA)-CONICET, [†]Laboratorio de Medicina Experimental, Hospital Alemán[‡].

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

3. La inhibición del estrés oxidativo es más eficaz que el bloqueo AT₁ para prevenir la respuesta inflamatoria renal a una sobrecarga aguda de sodio. Cao G[†], Rosón MI*, Della Penna* S, Gorzalczany S*, Pandolfo M*, Cerrudo C*, Toblli JE[‡], Fernández BE*. F de Farmacia y Bioquímica-INFIBIOC (UBA)-CONICET, [†]Laboratorio de Medicina Experimental, Hospital Alemán[‡].

Se investigó la participación de la angiotensina II (AngII) intrarrenal y el estrés oxidativo en la expresión de citoquinas pro-inflamatorias y pro-fibróticas en ratas Sprague Dawley sometidas a una sobrecarga aguda de sodio por infusión durante 2hs a 0,04ml/min. Se estudiaron 4 grupos: grupo Control (NaCl 0, 15M), Na (NaCl 1,0M), Na-Temp (NaCl 1,0M+tempol 50 $\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 100\text{g peso}^{-1}$) y Na-Los: (NaCl 1,0M+ losartán 10mg.kg⁻¹ en bolo). Se determinaron presión arterial media, parámetros de función renal y expresión renal intratubular de Ang II, factor inducible por hipoxia (HIF-1 α), RANTES, NF- κ B, y factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1) por inmunohistoquímica. Resultados: El losartán, antagonista de los receptores AT₁ de la AngII, tuvo mayor efecto diurético e igual efecto natriurético que el tempol, mimético de la superóxido dismutasa que actúa como agente antioxidante. La mayor inmunoexpresión de AngII, HIF-1 α y NF- κ B en túbulos proximales y conductos colectores del grupo Na fue inhibida por losartán y tempol ($p < 0,001$). La expresión de RANTES y TGF- β 1 fue inhibida solo por el tempol ($p < 0,001$). Se concluye que la AngII y el estrés oxidativo están implicados en la activación de factores de transcripción por una sobrecarga de sodio agudo; sin embargo, solo el tempol es eficaz para prevenir la expresión de inflamación y fibrosis.

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

Hepcidina controla la red de proteínas responsables de la movilización celular del Fe. Si bien se conoce que en macrófagos Hepcidina regula negativamente a Ferroportina (MTP1), no existen evidencias claras sobre la relación entre Hepcidina y MTP1 en duodeno y riñón. Nuestro objetivo fue esclarecer en hipoxia la respuesta del exportador MTP1, receptor de Hepcidina, en riñón y duodeno con exceso de Fe. Se utilizó un Modelo Acoplado que se desarrolló induciendo Sobrecarga de Fe seguida de Hipoxia. Ratones CF1 (n=14/grupo) agrupados en: 1) Sobrecarga de Fe (Laboratorios Rivero) seguida de Hipoxia: Fe-Dextrán (1g/kg) (días: 0/10) + Hipoxia (días: 21-33); 2) Sin Sobrecarga de Fe seguido Hipoxia: SF (días: 0/10) + Hipoxia (días: 21-33); 3) Sobrecarga de Fe en Normoxia: Fe-Dextrán (días: 0/10) + Normoxia (días: 21-33); 4) Sin Sobrecarga de Fe en Normoxia: SF (días: 0/10) + Normoxia (días: 21-33). Los tejidos se procesaron para inmunohistoquímica: anti-Prohepcidina; anti-MTP1; EnVision+System-HRP (DAB). En el Modelo Acoplado Exceso de Fe+Hipoxia, observamos un aumento marcado de Prohepcidina en hepatocitos asociados a vasos sanguíneos y en el estroma. En Hipoxia, MTP1 de enterocitos aumentó su expresión en membrana basal, con y sin exceso de Fe, respecto a Normoxia, donde se localizó perinuclear. MTP1 renal en Hipoxia sin exceso de Fe, aumentó su expresión en la corteza, sin cambios en Hipoxia con exceso de Fe. Concluimos que la respuesta de MTP1 a Hepcidina en sobrecarga de Fe e Hipoxia es tejido-específica. En intestino, el principal estímulo para la redistribución de MTP1 sería la señal hipóxica. En riñón, el exceso de Fe mediado por Hepcidina, sería el estímulo que predomina sobre MTP1 regulando negativamente su expresión.

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

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

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

Introducción: El NO en el riñón cumple numerosas funciones como mantenimiento de la perfusión medular, mediación de la natriuresis por presión, inhibición de reabsorción de sodio tubular y modulación de actividad nerviosa renal. **Objetivos:** Determinar el impacto de la hipertensión arterial (HTA) inducida por L-NAME sobre la función renal, estructura glomerular y NO en Médula (M) y corteza renal (C). **Métodos:** A ratas Sprague Dawley se administró L-NAME (50mg/100ml) en agua de bebida por 40-50 días (RLN). Se colocaron en jaulas metabólicas por 24 hs. Previo al sacrificio y extracción de ambos riñones se determinó la presión arterial media (PAM) por método directo. Se midió clearance de creatinina (CCr), glucemia, electrolitos, proteinuria, perfil lipídico y diuresis. Se midió el NO (8-10 fracciones de M y C renal - método de Griess) y se realizó estudios histomorfológicos. Los resultados se compararon con ratas controles (RC). En el análisis estadístico se usó "t" de Student y ANOVA. **Resultados:** La administración de L-NAME incrementó significativamente la PAM (163 \pm 16 n=7; RC: 113 \pm 3 mmHg, n=9, p<0,001). En RLN se encontró disminución del CCr (0,64 \pm 0,02 n=6; RC: 0,97 \pm 0,03 n=5 ml/min/100gr; p<0,001) a expensas del aumento de la [Cr] urinaria, sin modificación de otros parámetros bioquímicos. El peso renal fue mayor en RLN (1345 \pm 106 mg n=6; RC: 772,8 \pm 93mg n=6; p<0.02). El espacio de Bowman mostró un aumento en RLN (80,6 \pm 12,3 μm^2 ; n=5; RC: 33,4 \pm 9,8 μm^2 n=5; p<0.017; 12 glomérulos/corte). El NO en RC fue de 1,5 \pm 0,3 n=8 en M y 0,5 \pm 0,3 nmol/mg de tejido, n=5 en C (p<0,02). El NO en RLN fue similar en M y C (3,3 \pm 0,7 n=7 vs 3,2 \pm 0,9 nmol/mg n=8). En ambos casos fue mayor que RC (M: p<0,03 y C: p<0,04 vs RC). **Conclusiones:** La inhibición de la síntesis de NO habría producido una disminución del CCr indicando que la función renal en RLN estaría alterada. La mayor liberación de NO en M y C in vitro sugeriría que aún estaría presente el efecto contrarregulador del NO en el tejido renal, hecho observado a nivel glomerular.

7. Expresión de Aquaporina-8 mitocondrial (AQP8mt) del túbulo proximal renal en un modelo de acidosis metabólica en rata. Molinas SM¹, Trumper L², Marinelli RA.¹ IFISE/UNR, ²CIUNR.

La síntesis mitocondrial de NH_4^+ en las células proximales y su posterior excreción urinaria es una respuesta renal clave para mantener el equilibrio ácido-base durante la acidosis metabólica. AQP8 facilita el transporte difusivo de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ y se localiza en membrana interna mitocondrial de las células proximales, por lo que hipotetizamos participaría en el transporte mitocondrial de NH_4^+ en acidosis. Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de la acidosis sobre la expresión de AQP8mt en el túbulo proximal renal. La acidosis metabólica se logró administrando NH_4Cl 0,28M + sacarosa 2% a ratas Wistar macho adultas (n=6 por grupo) en el agua de bebida durante 2 (A2) ó 7 días (A7). Los controles recibieron sacarosa 2% (C2 ó C7). Mediante centrifugación diferencial y tratamiento con digitonina se aislaron membranas internas mitocondriales de corteza renal. Estudios de inmunoblotting mostraron que la expresión de AQP8mt no difirió de los controles en A2, mientras que aumentó significativamente en A7 (50 %). Este aumento coincidió con una mayor excreción urinaria de NH_4^+ (C2:41 \pm 10; C7:52 \pm 8; A2: 252 \pm 30*; A7:308 \pm 50*[#] mol NH_4^+ /mg creatinina), y una mayor compensación del pH sanguíneo (C2: 7,37 \pm 0,01; C7: 7,39 \pm 0,02; A2:7,26 \pm 0,01*; A7: 7,32 \pm 0,02*[#]) y del bicarbonato plasmático (C2: 26,5 \pm 0,4; C7: 25,8 \pm 0,4; A2: 17,6 \pm 0,9*; A7: 21,3 \pm 0,4*[#] mM). *p<0,05 vs. C; [#]p<0,05 vs. A2. Estos resultados sugieren un rol de AQP8mt en la respuesta de las células proximales a la acidosis crónica.

8. Permeabilidad al amoníaco de la aquaporina-8 de rata (rAQP8) expresada en mitocondrias de levadura. Soria LR¹, Fanelli E², Altamura N², Marinelli RA¹, Calamita G². ¹IFISE/UNR, ²UNIBA.

La destoxificación del amoníaco ocurre en el hígado, principalmente a nivel mitocondrial por ureagénesis. La rAQP8 muestra

permeabilidad a análogos del amoníaco y está presente en la membrana mitocondrial interna del hepatocito. No obstante, se desconoce si la rAQP8 facilita el transporte mitocondrial del amoníaco.

A fin de estudiar este proceso, la rAQP8 se expresó en membranas mitocondriales internas de levadura. Utilizamos *Saccharomyces cerevisiae* (pep4 Δ) que posee baja actividad proteolítica para proteínas heterólogas, y por la técnica de Stopped Flow Light Scattering estudiamos el transporte del amoníaco al interior mitocondrial empleando formamida como análogo. Preparamos y caracterizamos la fracción mitocondrial; anticuerpos específicos para distintas regiones de la proteína mostraron un enriquecimiento de rAQP8 en membrana mitocondrial interna. Evaluamos la integridad de las mitocondrias someténdolas a un gradiente hipertónico de manitol; éstas fueron capaces de responder osmóticamente. Finalmente, estudiamos el transporte mitocondrial del amoníaco imponiendo un gradiente de formamida; las mitocondrias que expresan AQP8 transportaron tres veces más rápidamente formamida que las mitocondrias control (Control: $0,17 \pm 0,02 \text{ s}^{-1}$; n= 17 vs. rAQP8: $0,48 \pm 0,04 \text{ s}^{-1}$; n= 36 p < 0,001). Nuestros resultados sugieren que la AQP8 mitocondrial facilita el transporte difusivo del amoníaco, un proceso que podría cumplir un rol importante en la destoxificación hepática del amoníaco abasteciendo el ciclo de la urea.

SISTEMA REPRODUCTOR

1. Protección de la progesterona (P) sobre la reabsorción embrionaria (RE) inducida por lipopolisacárido (LPS).

Participación del LIF y la glicodelina (Gd). Aisemberg, J., Vercelli, C., Billi, S., Wolfson, M., Cella, M. y Franchi, A. CEFYBO, Buenos Aires, Argentina.

La tolerancia materno-fetal mediada por P incluye la producción de proteínas inmunomoduladoras como Gd y LIF. La administración de LPS (1g/g) en el día 7 de gestación a hembras BALB/c produce 100% de RE en 24 h. Nuestro objetivo fue estudiar en este modelo alteraciones del mecanismo protector ejercido por P. Determinamos los niveles de P sérica, de ARNm de LIF/Gd y los niveles proteicos de Gd en sitios de implantación. En cultivo la expresión uterina del ARNm de LIF, los niveles de prostaglandina E₂ (PGE₂) y de óxido nítrico (NO) en presencia/ausencia de LPS, P, LIF y anticuerpo anti-LIF. Observamos disminución de la P sérica y que el suplemento hormonal previene la RE (p<0.05). Secuenciamos parcialmente el gen de Gd y encontramos a nivel proteico modulación negativa por LPS (p<0.001). El LPS aumentó la expresión del ARNm de LIF (p<0.01) y la misma regulación positiva observamos al incubar los úteros con P (p<0.05). La hormona y el LIF en cultivo disminuyen los niveles de NO y PGE₂ (p<0.05) inducidos por la endotoxina. La incubación con anticuerpo anti-LIF bloquea el efecto de la P incrementando el NO, lo que indicaría la participación del LIF endógeno. El efecto protector de la P, crucial para el éxito de la gestación, involucraría proteínas como LIF.

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

En el presente trabajo estudiamos el efecto de la administración aguda de BPA sobre el eje reproductor de ratas macho y hembra prepúberes. Se administró a los animales etanol 0.1%, grupo control y BPA en el agua de bebida, dosis aproximada de exposición (DAE)=3g/kg/día, n=10/grupo) desde el día 21 de vida y hasta los 30 días (hembras) y 35 días (machos). Se determinó LH, FSH, en suero (RIA,ng/ml) y liberación de Gn-RH, (RIA: pg/HMB) de fragmentos de hipotálamo medio basal. Se realizó estudio histológico de cortes de ovario, útero y testículo. En hembras ninguno de los parámetros estudiados sufrieron cambios (LH control: 4.2 ± 0.4 vs BPA: 4.4 ± 0.5 , FSH control: 94 ± 8 vs BPA: 80 ± 13 , Gn-RH control: 1.4 ± 0.4 vs BPA: 1.5 ± 0.3). Los estudios histológicos de ovario y útero no mostraron diferencias morfológicas ni morfométricas en ratas tratadas. En machos, los niveles de FSH disminuyeron significativamente, (control: 121 ± 12 vs BPA: 70 ± 5.0 , p<0.001), mientras los de LH y la liberación de Gn-RH no sufrieron cambios con el tratamiento. El estudio histológico de testículo, mostró en animales tratados progreso normal de la meiosis y aproximadamente un 10% de secciones de túbulos seminíferos conteniendo solamente Células de Sertoli, sin células de la serie espermática y un número mayor de espermatogonias. Los resultados sugieren una diferencia sexual en los efectos de BPA.

3. La hiperinsulinemia puede alterar la expresión de Caveolina-1 en placenta preeclámpticas. Dietrich V¹, Reza A¹, Castro-Parodi M¹, Szpilbarg N¹, Maskin B², Damiano AE¹: ¹Lab. Biología de la Reproducción, Cátedra de Biología Celular, Depto.Cs. Biológicas, F. Farmacia y Bioquímica, UBA ²Hospital Nacional "Prof. Dr. Alejandro Posadas".

El intercambio materno-fetal se realiza a través del sinciotrofoblasto por medio de transportadores específicos, muchos de

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

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

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

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

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

6. Cambios en la composición lipídica de la membrana del sincitiotrofoblasto mediados por insulina. Reza A¹, Castro-Parodi M¹, Dietrich V¹, Rodríguez C¹, Szpilberg N¹, Maskin B², Damiano AE¹. ¹ Lab. Biología de la Reproducción, Cátedra Biología Celular, Depto. Cs. Biológicas, F. Farmacia y Bioquímica, UBA ² Hospital Nacional "Prof. Dr. Alejandro Posadas"

Durante el desarrollo gestacional la composición lipídica del sincitiotrofoblasto se modifica para satisfacer las necesidades metabólicas del feto en crecimiento. Previamente informamos que la membrana plasmática del sincitiotrofoblasto de placentas preeclápticas tiene una mayor rigidez debido a un incremento en esfingomielina.

Dado que se observaron elevados niveles plasmáticos de insulina en mujeres preeclámpticas es posible que esta hormona este involucrada en los cambios observados en el sincitiotrofoblasto. Nuestro objetivo fue estudiar si la insulina puede afectar la composición lipídica del sincitiotrofoblasto. Explantos de placentas normales (n=7) fueron cultivados en presencia de distintas concentraciones de insulina (1, 10 y 100uUI/mL) durante 24hs. Vesículas de membranas apicales y basales fueron obtenidas por centrifugación diferencial. Los lípidos se extrajeron por medio del método de Bligh & Dyer y se cuantificaron por Fiske-Subarow. Para la determinación de colesterol se utilizó un método enzimático. En ningún caso se observaron cambios en los niveles de colesterol. Sin embargo, el contenido de fosfolípidos totales en membranas apicales disminuyó a 1uUI/mL de insulina y luego aumento significativamente de manera dosis dependiente, mientras que en membranas basales observamos un aumento dosis dependiente hasta alcanzar un plateau a 100uUI/mL. Estos cambios se correlacionaron con el índice fosfolípidos/colesterol indicando modificaciones en la fluidez de la membrana al aumentar la dosis de insulina. Estos resultados sugieren que esta hormona podría alterar la composición fosfolipídica del sincitiotrofoblasto pudiendo tener un rol en la patogénesis de la preeclampsia.

7. Mediadores lipídicos involucrados en la implantación. Sordelli MS, Farina MG, Cella M, Franchi AM, Ribeiro ML. CEFYBO (CONICET-Fac. de Medicina, UBA).

Se ha sugerido la participación de moléculas lipídicas en el establecimiento de la preñez. En nuestro laboratorio observamos que la síntesis de anandamida, un endocannabinóide, y la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) están moduladas durante la implantación en el útero de rata. El sistema endocannabinóide se expresa durante dicho período. La anandamida inhibe la NOS vía los receptores de cannabinoides tipo 2 ($p < 0.001$). Las PGs y la anandamida se han descrito como importantes mediadores de la invasión embrionaria. De hecho, observamos que las prostaglandinas (PGs) parecen mediar el efecto inhibitorio de la anandamida sobre el óxido nítrico. Otros autores informaron que ratones knock out para el receptor LPA3, uno de los receptores del ácido lisofosfatídico (LPA), presentan deficiencias en la implantación. Por lo tanto, estudiamos el efecto del LPA sobre mediadores que participan en la implantación en la rata. Observamos que la expresión del LPA3 está modulada en el útero de rata durante la gestación temprana. La incubación con LPA aumentó la expresión de la FAAH ($p < 0.05$), la enzima que degrada la anandamida, incrementó la expresión de la COX-2 ($p < 0.05$) y la producción de PGE2 ($2,1 \pm 0,1$ vs $2,7 \pm 0,2$ pgPGE2/mg ph, $p < 0.05$). Además, el LPA indujo la expresión de IGFBP-1, un marcador de decidualización. Estos resultados sugieren la participación de la anandamida, las PGs y el LPA como potentes mediadores lipídicos que favorecerían la implantación del embrión.

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

Las prostaglandinas (PGs) se sintetizan a partir del ácido araquidónico (AA) por las ciclooxigenasas (COX1 y COX-2) y son metabolizadas por la 15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa (PGDH). El sistema de endocannabinoides y sus receptores (CB) se han descrito en la placenta humana. Recientemente se ha demostrado que la anandamida (AEA), uno de los principales endocannabinoides, modula la síntesis de PGs en amnios humano.

Nuestro objetivo fue analizar el efecto de la AEA sobre el sistema prostanoide (COXs/PGs/PGDH) en placenta humana. Se cultivaron explantos de vellosidades coriónicas provenientes de placentas obtenidas de mujeres con embarazos sin complicaciones, luego de cesáreas electivas a término (38-40 semanas de gestación). Se realizó una curva concentración-respuesta y en el tiempo del efecto de AEA (10^{-10} - 10^{-6} M) sobre la producción de PGs. La incubación de explantos de placenta humana con concentraciones nanomolares de AEA disminuyó la síntesis de PGE2 y PGF2 alfa, cuantificadas por radioinmunoanálisis (RIA). Así mismo se detectó por western blot la expresión de COX-2 y PGDH en explantos de placenta a término. Observamos que la AEA (10^{-9} M) aumentó la expresión proteica de PGDH mientras que disminuyó la expresión de COX-2. Los resultados obtenidos sugieren que la AEA, en concentraciones fisiológicas, es capaz de regular el sistema prostanoide en placenta humana al término de la gestación.

ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA

NOVIEMBRE DE 2010

FACULTADES DE CIENCIAS MÉDICAS, CIENCIAS EXACTAS Y AFINES
DE LA REPÚBLICA ARGENTINA

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.