

# Physiological Mini Reviews

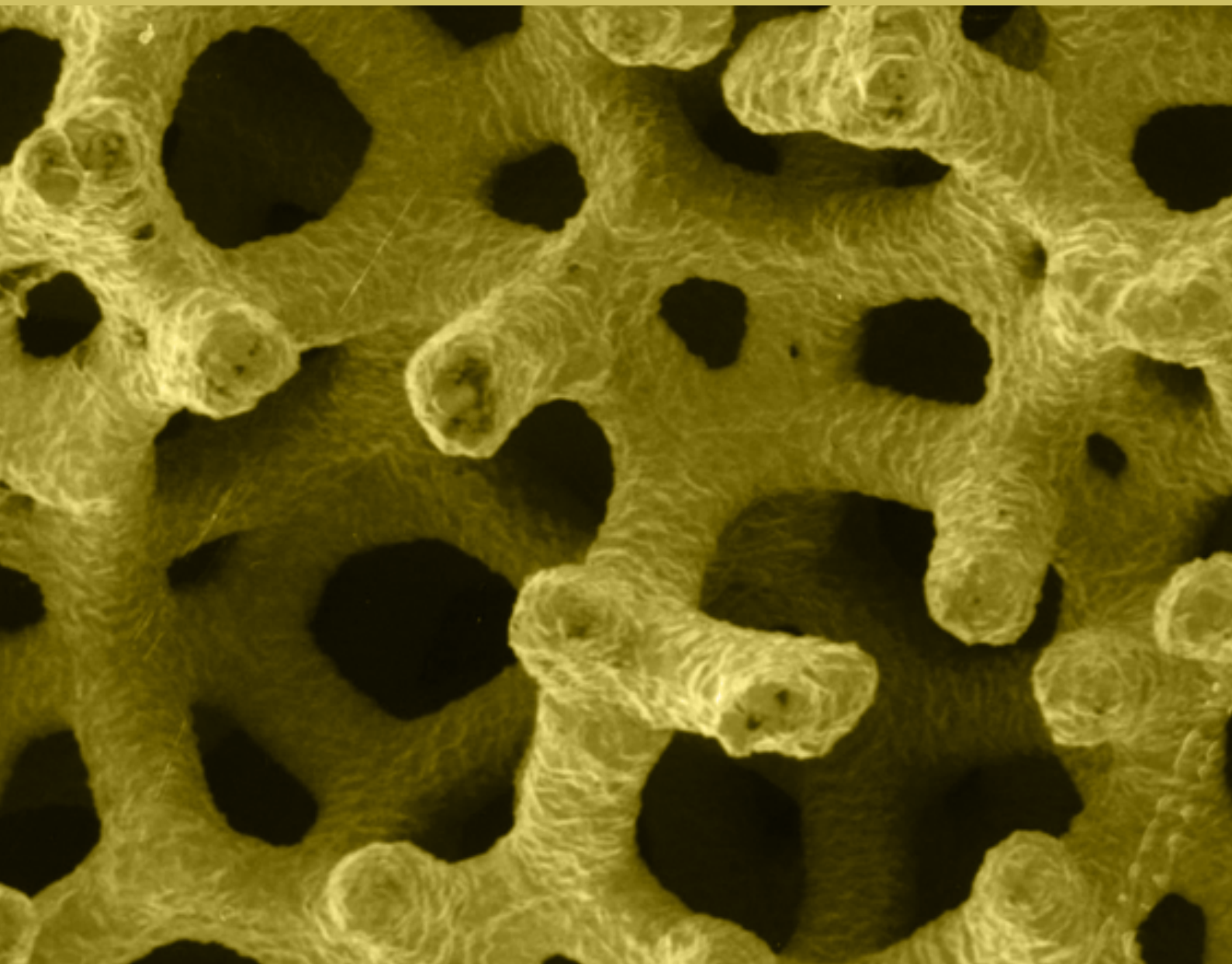
Special Issue

**IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES  
DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA.**

**REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD  
ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA.**

# 9

Volume

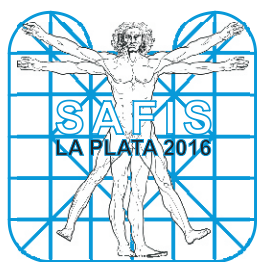


**Vol. 9 Special Edition**, October, 2016

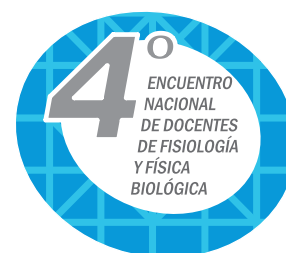
ISSN 1669-5410 (Online)

[pmr.safisiol.org.ar](http://pmr.safisiol.org.ar)





**SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA**



## **IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA**

### **REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA**

**OCTUBRE 5-7, 2016 Hospital Universitario Integrado-  
Facultad de Ciencias Médicas UNLP-La Plata, Argentina**



**SAFIS**

Sociedad Argentina de Fisiología



Estimados amigos,

En nombre de la Comisión Directiva de la Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS) les doy la bienvenida a nuestro Congreso Anual, que en esta ocasión se realiza en la ciudad de La Plata, junto con el Cuarto Encuentro de Docentes de Fisiología.

La Sociedad Argentina de Ciencias Fisiológicas fue fundada el 23 de marzo de 1950 por el Dr. Bernardo Houssay. Desde sus orígenes participó en la organización de numerosas reuniones nacionales e internacionales en distintas ciudades de nuestro país. Fue también motor de la fundación de la Sociedad Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas (ALACF). En el año 1993 la Sociedad interrumpió sus actividades. Sin embargo, se reorganiza por iniciativa del Dr. Mario Parisi en el año 2003, como Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS). Desde su reorganización la SAFIS ha crecido en el número de socios (inicialmente 120, actualmente 500) y ha desarrollado diversas actividades, entre ellas la organización de Reuniones Científicas a Nivel Nacional e Internacional. Por ejemplo, entre las últimas, la SAFIS organizó, en el año 2006, el XXII Congreso de la ALACF en nuestro país; participó, en el año 2009, de la organización del XXIII Congreso ALACF en Pucón (Chile) y participó de la organización del 1er Congreso Panamericano de Ciencias Fisiológicas 2014 que tuvo lugar en la ciudad de Foz de Iguazú, Brasil. A nivel nacional la SAFIS ha realizado sucesivos congresos de manera individual o en conjunto con otras destacadas Sociedades del país (SAIC, SAI, SAFE, SAB y SAN).

La SAFIS también promueve la actividad docente en Fisiología. En noviembre 2010, en el marco de su Reunión Anual, la SAFIS organizó el Primer Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología, en el que se abordó la problemática común de su enseñanza en las diferentes Universidades del país. El éxito de esta actividad fue tal que planteó la necesidad de incorporar estos eventos, en carácter de bianuales, a los congresos regulares de la Sociedad de tal modo que en el año 2012 tuvo lugar el Segundo Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología en Rosario y en el año 2014 se realizó el Tercer Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología en Buenos Aires. En el presente año, en el marco del actual Congreso Anual, tenemos el orgullo de presentar el Cuarto Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología.

La SAFIS también se enorgullece de difundir la investigación y la docencia en el área de Fisiología mediante la edición de una revista electrónica, *Physiological Mini-Reviews*, en la cual colaboran prestigiosos investigadores nacionales y extranjeros. En nombre de la Editora de esta revista, la Dra. Alicia Mattiazzi, los invito a enviar artículos para ser considerados para su publicación.

La SAFIS también propone el reconocimiento de la labor Científica de los Jóvenes Investigadores ya que en cada Reunión Anual promueve la postulación de trabajos a optar por dos tipos de premios, evaluados por un jurado de destacados científicos: 1- Premio SAFIS, a la mejor contribución en ciencias fisiológicas (excluyendo el área cardiovascular) y 2- Premio Camilión de Hurtado a la mejor contribución en fisiología cardiovascular. Al respecto de éste último, quiero agradecer de corazón a la familia Hurtado por su constante apoyo a nuestra Sociedad. En el presente Congreso, ambos Premios tendrán el formato de Simposio. Además, durante el Encuentro Docente se entregará el Premio "Ángeles Costa" al mejor trabajo presentado en formato Poster.

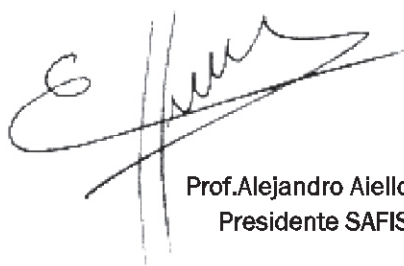
Para esta reunión, además de los Simposios de Jóvenes Investigadores que acabo de mencionar, organizamos dos Conferencias y cuatro Simposios con distinguidos disertantes del país y del extranjero. En honor al recientemente fallecido Dr. Horacio Cingolani, referente indiscutido de la

Fisiología argentina, hemos denominado la Conferencia Inaugural en su nombre. Por último, se presentarán 63 trabajos en formato Poster. Por otra parte, durante el Encuentro Docente se realizarán talleres, mesas redondas y conferencias y se presentarán 28 trabajos originales en formato poster. Los resúmenes del Encuentro Docente y de la Reunión Anual se publicarán en la revista Physiological Mini-Reviews.

Para organizar el Congreso Anual contamos con el apoyo económico del CONICET, de la Universidad Nacional de La Plata, de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP y de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC). Quiero agradecer a los coordinadores de los Simposios, Conferencias, y de las Sesiones de Posters como así también a los Jurados de los Premios SAFIS, Camilión de Hurtado y Ángeles Costa. Muchas gracias a Valeria Casazza, nuestra incansable y eficiente secretaria permanente. Mi especial y profundo agradecimiento a los miembros del Comité Organizador del Encuentro Docente, con especial reconocimiento a su Coordinadora, la Dra. Claudia Caldiz. También por supuesto va mi infinito agradecimiento a los miembros de la Comisión Directiva, con especial énfasis a nuestra Secretaria, la Dra. Celeste Villa-Abrille que ha puesto sobre sus espaldas gran parte de la realización de este Congreso. Aunque la organización de un evento de estas características conlleva un gran sacrificio y esfuerzo, quiero reconocer que también lo hemos disfrutado por el gran grupo que constituimos en esta Comisión Directiva. La tarea fue dura pero al mismo tiempo amena, cordial y entusiasta. Llegando al final de mi mandato quiero reconocer también el sustento y apoyo que me brindaron mis compañeros de Comisión Directiva durante estos dos años de gestión. Al Dr. Alberto Crottogini, quien me sucederá como Presidente en el período 2017-2018, le deseo el más grande de los éxitos en su gestión, y le ofrezco públicamente mi más sincero apoyo, sabe que siempre podrá contar conmigo. Por último agradezco el apoyo infinito que constantemente me brinda mi familia.

El año anterior finalicé mi discurso de bienvenida destacando la activa participación de los jóvenes en la investigación científica. En el presente año quiero reconocer la participación constante y entusiasta de los Investigadores Formados, que no mezquinan esfuerzos para marcar el camino, este hermoso camino del conocimiento.

Les agradezco su atención y espero disfruten del Congreso.



Prof. Alejandro Aiello  
Presidente SAFIS

## **AUTORIDADES**

### **Presidente:**

Ernesto Alejandro Aiello

### **Vicepresidente:**

Alberto Crottogini

### **Tesorero:**

Néstor Gustavo Pérez

### **Secretaria:**

María Celeste Villa-Abrille

### **Vocales Titulares:**

Gisela Di Giusto

Cristian Favre

Irene Lucía Ennis

Verónica Milesi/Analía Tomat

### **Vocales Suplentes:**

Fernanda Daniela Olea

Verónica Milesi/Analía Tomat

### **Vocal Región Litoral-Noreste:**

María Laura Ruiz

### **Vocal Región Centro:**

María Julia Cambiasso

### **Vocal Región Noroeste:**

Gabriel Orce

### **Vocal Región Sur:**

Andrea N. Chisari

### **Vocales Externos:**

Sergio Gradilone

Leandro Soria

### **Vocales Externos Suplentes:**

Carolina Garciarena

Oscar Candia

### **Órgano de Fiscalización:**

Alicia Mattiazzi

Matilde Said



## **IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA**

**5 DE OCTUBRE DE 2016 Hospital Universitario Integrado  
Facultad de Ciencias Médicas UNLP-La Plata, Argentina**

Estimados amigos docentes:

En nombre de la Comisión Directiva de la Sociedad Argentina de Fisiología y del Comité Organizador del IV Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología y Física Biológica es para nosotros un enorme placer darles la bienvenida. Como muchos de ustedes saben, estos Encuentros tuvieron su origen en una iniciativa de la Dra. Alicia Mattiazzi en el marco de la Reunión Anual SAFIS 2010 en Mar del Plata. El éxito de aquel primer Encuentro puso en evidencia una necesidad de la comunidad de fisiólogos y biofísicos que, además de investigar en el área, hacemos docencia en las Universidades de nuestro país. Así fue que se sucedieron el Segundo Encuentro en SAFIS 2012 en Rosario y el Tercero en SAFIS 2014, en la Ciudad de Buenos Aires.

La riqueza del intercambio en los Encuentros fue reforzando la idea que problemáticas comunes requieren del trabajo colaborativo, se enriquecen en la mirada conjunta, y necesitan de la interpelación constante a nuestras prácticas docentes. Hoy los Encuentros ya son parte, en carácter de evento bianual, de las Reuniones SAFIS.

Con mucho entusiasmo y expectativa iniciamos el desarrollo del Cuarto Encuentro en la ciudad de La Plata. Nuestro principal desafío es continuar fortaleciendo los lazos entre todos los docentes de Fisiología y Biofísica del país y comenzar a sumar a los colegas del exterior.

Durante este IV Encuentro, abordaremos como temática central “La evaluación en el proceso de aprendizaje” a través de Conferencias, Talleres y Mesas Redondas con la participación de reconocidos Docentes y Pedagogos de nuestro país. Tenemos la satisfacción de anunciar que se presentarán además, veintisiete trabajos en formato poster provenientes de distintas Universidades del país. En este sentido y con el propósito de estimular la participación y continua formación de jóvenes docentes, se otorgará el Premio Ángeles Costa al mejor trabajo presentado.

Vaya nuestro más profundo reconocimiento a todos nuestros prestigiosos invitados así como a los Coordinadores de Sesiones, a los Jurados del Premio y a los Disertantes en la defensa de los posters.

Para finalizar esta presentación queremos agradecer a todos los organismos que han

declarado de interés este evento y a los que han brindado el apoyo económico que lo hace posible.

En particular el IV Encuentro Nacional de Docentes de Fisiología y Física Biológica fue:

**Declarado “de interés educativo”** por la Secretaría de Políticas Universitarias – Ministerio de Educación de la Nación.

Les damos la más cálida bienvenida y esperamos disfruten del Encuentro.

Comité organizador

## **COMITÉ ORGANIZADOR**

**Claudia Caldíz**  
**Carolina Caniffi**  
**Cristina Carnovale**  
**Claudia Capurro**  
**Andrea Chisari**  
**Verónica Milesi**  
**Roxana Toriano**

## **ESTE EVENTO FUE REALIZADO CON EL AVAL DE:**

- Facultad de Medicina - Universidad Nacional de La Plata
- Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad de Buenos Aires
- Facultad de Medicina - Universidad de Buenos Aires
- Facultad de Ciencias Exactas - Universidad Nacional de La Plata
- Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de la Plata
- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad Nacional de Mar del Plata
- Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario
- Facultad de Ciencias Médicas - Universidad Nacional de Rosario
- Universidad Favaloro

## **AUSPICIOS**

- CONICET
- Ministerio de Educación - Presidencia de la Nación
- Universidad Nacional de La Plata
- CIC Comisión de Investigaciones Científicas
- Editorial Panamericana
- ADInstruments

## IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA

La Plata - Buenos Aires - Argentina



### PROGRAMA

#### Miércoles 5 de octubre

**8:30 - 9:00**

---

**Acreditación / Colocación de Posters** (Hall Central del Hospital Universitario Integrado)

**9:00 - 9:30**

---

**Palabras de Bienvenida - Apertura del Encuentro** a cargo de la Coordinadora Dra. Claudia Caldiz y la Sra. Decana de la Facultad de Ciencias Médicas, Dra. Ana L Errecalde

**9:30 - 11:00**

---

#### **Talleres Simultáneos.**

Eje temático: "La evaluación como herramienta útil en el proceso de aprendizaje".

Coordinador general: Lic. Hugo Labate.

#### **- Taller 1:**

**Lic. Silvana Cerasa:** "Instrumentos de evaluación acordes a las prácticas en la enseñanza de Fisiología"

#### **- Taller 2:**

**Prof. Marta Tenutto:** "¿Qué y cómo se enseña? ¿Qué y cómo se evalúa?"

#### **- Taller 3:**

**Lic. Hilda Weissmann:** "Es hora de tomar una decisión: ¿Califico o evalúo?"

**11:00 - 11:30**

---

**Intervalo - Café**

**11:30 - 12:30**

---

#### **Conferencia Inaugural:**

**Lic. Sebastián Caffera**

"Una visión actual sobre la enseñanza de Fisiología y su articulación con la práctica profesional"

**12:30 - 14:30**

---

**Almuerzo - Recorrida de Posters**

**14:30 - 16:00**

---

**Talleres (continuación)**

**16:00 - 16:30**

---

**Intervalo-Café**

**16:30 - 18:00**

---

**Mesa Redonda y Conclusiones con Expertos.**

Panelistas Invitados:

**Lic. Hilda Weissmann** (especialista en Didáctica de las Ciencias)

**Dra. Marta Tenutto** (Pedagoga especialista en evaluación)

**Lic. Hugo Labate** (experto en Educación y consultor internacional de la UNESCO)

**18:15 - 19:15**

---

#### **Conferencia de Cierre:**

Dr. Oscar Bottasso

"Los claro-oscuros del proceso enseñanza-aprendizaje-evaluación"

**19:15 - 19:30**

---

**Cierre - Entrega de premios:**

se hará entrega del premio al Mejor Póster "Dra. María de los Ángeles Costa"

**(Las Conferencias y mesa redonda se realizarán en Auditorio del Hospital Universitario Integrado)**

## **IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA**

La Plata - Buenos Aires - Argentina

### **LISTADO DE RESÚMENES**

**1. GREGORIO SAMSA EN UNA AVENTURA MOLECULAR. LA UTILIZACIÓN DE RECURSOS ARTÍSTICOS PARA EL APRENDIZAJE Y EVALUACIÓN EN CIENCIA.** M Santalla, P Ferrero. Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales. UNNOBA. Centro de Investigaciones Cardiovasculares- Dr Horacio E. Cingolani

Existen varias estrategias pedagógicas a la hora de evaluar el desempeño y los conocimientos adquiridos por el alumno. Éstas han sido ampliamente difundidas entre las distintas áreas educativas, suelen brindar al docente cierto grado de conocimiento sobre el avance y desarrollo del alumno en el tema dictado, pero se tornan engorrosas y desmotivantes para el alumno.

Desde las cátedras de “Biología Celular y Molecular” y “Genética Molecular” de la Universidad del Noroeste de la provincia de Buenos Aires nos propusimos diseñar actividades “especiales” donde el alumno pueda aplicar los conocimientos adquiridos, expandir su creatividad y divertirse a la hora de ser evaluados. Para ello se diseñaron dos tipos principales de “actividad especial”. Por un lado, dado que como futuros profesionales deberán emplear la escritura como medio usual de comunicación entre pares y con la comunidad en general, una de las actividades consiste en leer durante el transcurso de la cursada un libro de literatura general. Luego de la lectura de éste se realizará la actividad propiamente dicha, en la que el alumno debe asociar de manera lógica los acontecimientos del libro a algún/os de los procesos celulares o herramientas que vieron durante la cursada. En otras ocasiones el mismo ejercicio se realiza de manera inversa, convirtiendo una actividad convencional del ámbito académico en una redacción literaria con formato de libro. El otro tipo de actividad consiste en la utilización de recursos artísticos para explicar o ejemplificar un proceso celular o biológico. Puede consistir en modificar la letra de una canción conocida, representar una obra de teatro o cocinar. En este caso se les da una serie de pautas a seguir a los alumnos y todo lo demás corre por cuenta de su creatividad. Así es como se grabaron audios de un partido de fútbol utilizando como material de partida un resumen de un paper, se representó la apoptosis mediante la cocina de tortas, o se filmó un proceso celular complejo como la traducción con materiales hallados al aire libre.

De esta manera se logra evaluar el aprendizaje adquirido por los alumnos reflejado en la capacidad para poder adaptar un tema específico de la carrera a situaciones cotidianas de la vida. Es necesario haber comprendido un concepto para poder moldear en torno a él las distintas actividades que se plantean, por lo que más allá de servir como método de evaluación también lo es como método educativo.

**2. RESPUESTA DE LOS ESTUDIANTES FRENTE A LA REVISIÓN DE TRABAJOS COLABORATIVOS EFECTUADOS POR PARES.** M Ibáñez Shimabukuro, JI Felice, E Harnichar, MV Gangoití, F Speroni. Cátedra de Anatomía e Histología, comisión farmacia/óptica/profesorado/biotecnología. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

En el curso de anatomía e histología de la comisión farmacia/óptica/profesorado/biotecnología se desarrollan diversos trabajos colaborativos. Estas actividades son previas a las evaluaciones y su objetivo consiste en generar distintos materiales de estudio producidos por los mismos estudiantes y a la vez involucrarlos de manera activa en el proceso de enseñanza-aprendizaje. Algunas actividades se realizan en el contexto del curso presencial (revisión de descripciones histológicas) y otras a través de la cátedra virtual (producción de un diccionario temático y ejercicios de repaso). Todas estas actividades constan de tres etapas: en primer lugar un estudiante confecciona una descripción, una definición o una respuesta a un ejercicio. En segundo lugar otro estudiante revisa dicha producción y en tercer lugar un docente hace una devolución de la producción final. En la mayoría de los casos se ha observado que los estudiantes reaccionan satisfactoriamente en la primera etapa, mientras que no participan en el proceso de revisión o lo hacen de forma mínima cumpliendo con la formalidad, pero sin evidenciar una lectura exhaustiva del material producido por su compañero.

A fin de mejorar la segunda etapa, se indagaron, a través de una encuesta, las razones por las cuales no se generaban participaciones genuinas de revisión. Entre las respuestas sobresale el hecho de no sentirse lo suficientemente preparados para ejercer el rol de crítico. La totalidad de los encuestados manifestó no tener inconvenientes en recibir críticas, aunque aparecieron aspectos subjetivos sobre la forma y buena intención con que deberían realizarse, para evitar descalificaciones o juicios que revelen hostilidad. El 71% de los encuestados manifestó leer y prestar atención a las producciones y respuestas de sus compañeros, pero solo el 6% declaró que realizaba revisiones. Sin embargo, al proponer actividades en que se pauta inicialmente la inclusión voluntaria de errores para detectarlos en materiales preparados por estudiantes, la participación mejora.

Estas observaciones sugieren que los estudiantes prestan atención a las producciones de sus colegas, señalan los errores voluntarios, pero a la hora de señalar los errores involuntarios aparecen factores principalmente relacionados con la seguridad académica en el manejo de los contenidos y con el sentido de autoridad.

Prestar atención a cómo los estudiantes aceptan (o rechazan) y se involucran con las actividades que proponemos, nos permite a los docentes realizar ajustes en el diseño de las tareas y de esta manera propiciar una práctica situada y reflexiva de la enseñanza.





### **3. EVALUACIÓN CON RECURSOS MULTIMEDIALES EN UN CONTEXTO DE APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS. C Bratovich, G Hirigoyen, L Mendez Castells, ML Menghi, D Zapata. Lab. de Fisiología y Biofísica - Facultad de Ingeniería - UNER**

El cursado de la asignatura Fisiología y Biofísica, en la carrera de Bioingeniería de la UNER, está organizado en cuatro módulos. El tercer módulo incluye temas que implican un primer nivel de integración fisiológica, sin enfocarse en los aspectos de regulación de los sistemas fisiológicos que se desarrollan en el cuarto módulo. Los temas que se trabajan en este módulo son: Fisiología y Biofísica de la Visión y Audición, Sistema Somatosensorial, Reflejos, Fisiología Sexual y Reproductiva, Crecimiento y Desarrollo, Inmunidad y Sistema Psiconeuroinmunoendócrino. La metodología de trabajo, aprendizaje y evaluación está enmarcada en la estrategia de enseñanza basada en casos y en problemas (ABC y ABP), con modalidad de trabajo en equipo. En el curso 2015, el hilo conductor de las actividades fue la película “El Hombre Bicentenario”, a partir de la cual se plantearon preguntas, problemas y actividades prácticas para discutir, responder, resolver e informar a los efectos de que el proceso de aprendizaje fuera evaluado mediante un seguimiento semanal, individual y grupalmente. El trabajo se desarrolló en el contexto de una estructura flexible en la cual las comisiones de trabajos prácticos fueron el espacio de seguimiento y consulta. Se realizó una evaluación continua, a través de la interacción entre los grupos y los docentes, para construir una calificación individual. Se evaluaron los informes de las producciones semanales: resolución de casos, problemas, actividades prácticas, etc. de forma grupal, y finalmente una evaluación oral individual usando una “Bolsa Digital de Gráficos”. Para ello, los alumnos tuvieron disponible on line, desde la primera semana del módulo, una carpeta de imágenes vinculadas a los distintos temas. Esta prueba de evaluación se realizó sobre el final del módulo y consistió en explicar desde un punto de vista fisiológico lo que se mostraba en las imágenes o contestar oralmente preguntas sobre la temática de las mismas. Cada alumno debía responder satisfactoriamente ante dos imágenes tomadas al azar de la “bolsa digital”. Las actividades de ABC y ABP con la película, posibilitaron trabajar los temas de una forma más integral y motivadora. La modalidad de evaluación con la “Bolsa de Gráficos” permitió a los estudiantes usar estas imágenes como insumo para el estudio, y desarrollar o reforzar la habilidad de interpretación conceptual de gráficos, que había sido detectada como deficiente en cursos anteriores. Los estudiantes consideraron que esta metodología de evaluación los prepara en su oralidad para instancias futuras, tanto académicas como profesionales.

### **4. DETECTANDO UN PROBLEMA, BUSCANDO SOLUCIONES: LA CREACIÓN DE UNA CÁTEDRA MIXTA DE FISIOLÓGIA PARA LOS ALUMNOS DEL PROFESORADO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. <sup>1</sup>C Caldiz, <sup>1</sup>L Vittone, <sup>1</sup>M Said, <sup>2</sup>L Lapasta. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Médicas - UNLP. <sup>2</sup>Facultad de Humanidades y Cs Educación -UNLP.**

Recientemente creamos, en la Cátedra de Fisiología y Física Biológica de la Facultad de Medicina de la UNLP, un programa de tutoría para los alumnos repitentes; donde detectamos que muchos pertenecían al Profesorado de Ciencias Biológicas de la Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación (FaHCE), los cuales por muchos años han cursado la materia en la Cátedra citada. Esta materia muestra el funcionamiento del organismo en estado de salud para que el alumno pueda distinguir éste del estado patológico o de enfermedad. Debido a que los contenidos muchas veces no resultan significativos para el alumnado de Humanidades, a finales del año 2015 surgió por parte de docentes de ésta Cátedra y también de la Directora del Departamento de Ciencias Exactas y Naturales (FaHCE) la inquietud de crear un espacio /Cátedra propia considerando la necesidades específicas de los profesionales que se están formando. Generamos una Cátedra mixta donde los alumnos, cursan los contenidos teóricos en su unidad académica de pertenencia, y con el permiso de las autoridades de la Facultad de Medicina de la UNLP, concurren a trabajos prácticos específicos. Esta particularidad de cursada surge para maximizar el uso de los recursos docentes, edificios y además no perder la formación científica aportada por la Facultad de Medicina y desarrollar las actividades de forma más eficiente. Organizamos el dictado de la materia con clases teóricas que se desarrollan previamente al dictado del trabajo práctico de manera que el alumno llega al mismo con conocimientos que le permiten interpretar los experimentos que realiza, adquiriendo significación en su aprendizaje. Por otra parte realizamos actividades en conjunto con la Cátedra de Didáctica Específica en Ciencias Biológicas de la FaHCE para poder articular y enfocar los contenidos en el marco de los programas de educación secundaria vigentes. Dado el número reducido de alumnos propusimos una cursada por promoción con evaluación continua donde se tendrá en cuenta, el desempeño individual, compromiso con la preparación de las actividades teóricas como, seminarios, clases expositivas y de investigación. Considerando que los alumnos serán futuros docentes se tendrá también en cuenta el desarrollo de competencias vinculadas con su práctica profesional, tales como: comunicación del conocimiento, claridad expositiva y uso correcto del lenguaje académico. Aunque la implementación es reciente, de los 16 alumnos inscriptos 11 han aprobado el 1er parcial 90% de los cuales están en régimen de promoción. Los restantes dejaron la cursada por motivos laborales/económicos y/o motivos de salud.

## **IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA**

La Plata - Buenos Aires - Argentina

**5. APLICACIÓN DE DIVERSAS METODOLOGÍAS DE EVALUACIÓN EN LA ASIGNATURA FISIOLÓGÍA ANIMAL.** N Enrique, I León, M Moncada, MJ Tolosa, AR Roldan Palomo, V Milesi, P Mobili. Cátedra de Fisiología – Depto. Cs. Biológicas – Fac. Cs. Exactas-UNLP.

Desde el 2014 comenzamos con la asignatura Fisiología Animal para la carrera de Biotecnología. Planteamos un nuevo enfoque en la enseñanza de Fisiología, entendiendo que “ninguna innovación curricular será efectiva si no va acompañada de innovaciones en el modo de concebir la evaluación” (Bonsón y Benito, 2005). Cambiamos la evaluación de parciales escritos, incluyendo metodologías de evaluación formativa, con el objetivo de mejorar los procesos de enseñanza aprendizaje. Incorporamos evaluaciones semanales, talleres y un examen al final del curso. Las evaluaciones semanales tienen como objetivo el seguimiento del aprendizaje para avanzar coordinadamente con los alumnos. Utilizamos Moodle para crear cuestionarios on-line de opción múltiple. Aquellas preguntas con un alto número de respuestas incorrectas, son resueltas en clases siguientes. Esta instancia no es obligatoria ni se tiene en cuenta para la calificación.

En los talleres, los alumnos forman un grupo, eligen un tema, realizan un informe escrito y una exposición frente a clase. Cuentan con 1 mes de preparación mínimo, disponiendo de consultas. La evaluación la realizan los docentes, sus compañeros (pares) y ellos mismos (autoevaluación). Del promedio surge una calificación de taller.

El examen tuvo diferentes modalidades en las distintas cohortes:

-Examen escrito u oral a elección (2014/2015)

-Examen escrito a carpeta abierta (2016)

Las evaluaciones de los talleres y del examen son las que conformarán la nota final.

Del análisis de los resultados de las distintas metodologías observamos que:

-En la opinión de los docentes y de los alumnos las evaluaciones semanales cumplieron con el objetivo propuesto de mejorar el proceso de enseñanza.

-Sobre los talleres pudimos analizar completamente la cohorte 2016, donde se conformaron 16 grupos. Encontramos que: la nota máxima fue en 9/16 grupos la nota de los docentes, en 4/16 la nota de autoevaluación y 3/16 la nota de los pares. La evaluación de pares otorgó la nota más baja en 12/16 grupos. La nota de autoevaluación en 11/16 grupos era superior a la nota de los pares.

-Con respecto al examen, no hemos terminado con el curso 2016, pero realizaremos la comparación de las metodologías de evaluación en el poster.

Realizamos una encuesta final en todas las cohortes para conocer la opinión de los alumnos tanto sobre aspectos puntuales como comentarios libres de la asignatura.

En todas las instancias de la materia recalamos la importancia de la participación de los alumnos, situándolos en un lugar de responsabilidad dentro del proceso de su propio aprendizaje.

**6. FISIOLÓGIA DE LA COMUNICACIÓN NEURONAL: MODELO COMPUTARIZADO.** MF Fernández Delias, G Giorgi, A Elia, E Nielsen, ME Roque. Fisiología- BByF- Universidad Nacional del Sur.

La tecnología de la información y la comunicación (TICs) es un recurso didáctico adecuado para estimular la participación activa de los estudiantes y despertar el interés en lograr los objetivos planificados. En la cátedra de Fisiología de Bioquímica y de Farmacia de la UNS, utilizamos un Modelo Computarizado como recurso didáctico para estudiar la fisiología de comunicación neuronal (Davis M, 2001). Objetivos: facilitar el aprendizaje de la sinapsis química mediante la interacción del estudiante con el modelo de simulación diseñado para: 1) Modificar el potencial de acción; 2) Observar los efectos del cambio de distintos parámetros (constante de tiempo, pulsos, longitud); 3) Evaluar la respuesta neuronal. Recurso Pedagógico: El modelo computacional consta de dos pantallas: Pantalla 1: visualiza interconexiones entre neuronas presinápticas y postsinápticas. Las neuronas presinápticas son estimuladas desde un panel de control. Pantalla 2: grafica los cambios de potencial de membrana neuronal frente a los distintos estímulos. Resultados: El recurso pedagógico despertó el interés de los estudiantes e incentivó la interacción grupal. Las evaluaciones mostraron un alto porcentaje de estudiantes con respuestas satisfactorias a los ejercicios planteados (92%). Conclusiones: el Modelo Computarizado fue de gran utilidad para la enseñanza de la Fisiología de la Sinapsis, favoreciendo el proceso de enseñanza-aprendizaje.

**7. INNOVACIÓN EN LA EVALUACIÓN DE ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.** SM Cantú, HJ Lee, MR Choi, AM Puyó, AS Donoso. Cátedra de Anatomía e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

La asignatura Anatomía e Histología pertenece al tercer y cuarto cuatrimestre de las carreras de Farmacia y Bioquímica, y cuenta con doce trabajos prácticos (TPs) de cuatro horas semanales obligatorias cada uno. Cada TP consiste en una clase introductoria de aproximadamente una hora de duración, seguida de actividades donde los alumnos analizan preparados



histológicos al microscopio óptico, interpretan microfotografías electrónicas, observan maquetas y filminas, resuelven dudas y plantean inquietudes a sus docentes respecto de las actividades de nuestra guía de estudios. Considerando que la evaluación forma parte del proceso de enseñanza y de aprendizaje decidimos modificar la metodología de evaluación de los TPs a fin de lograr una evaluación formativa y sumativa entre todos los contenidos impartidos. Tradicionalmente para regularizar la asignatura, los alumnos eran evaluados cada tres TPs con un examen escrito teórico-práctico. Potentes innovaciones fueron implementadas en el proceso de evaluación: a) reemplazamos una evaluación escrita por una diagnóstica con uso de microscopios ópticos (2013); b) incluimos la evaluación del enfoque de un preparado histológico como contenido procedimental (2014); c) agregamos una evaluación de dos preguntas teóricas conceptuales al comienzo de cada TP (2015). Actualmente como labor complementaria opcional y con la finalidad de entrenar a los alumnos, cada TP incluye actividades accesibles desde el aula virtual de la asignatura que son luego debatidas con los docentes. La evaluación se realiza en dos instancias, cada una incluye seis TPs y consiste en un examen escrito de cinco ítems integradores transversales a los TPs cursados que incluye el puntaje obtenido en las preguntas del comienzo de cada clase, y una evaluación netamente práctica. Los resultados preliminares de esta experiencia reflejaron en el año 2016 un incremento significativo del 24% más de aprobación por examen promocional con respecto al año 2015. Adicionalmente, el porcentaje de alumnos que no promocionaron pero aprobaron ambos exámenes promocionales con nota entre 4(cuatro) y 6 (seis), fue tres veces superior con respecto al año 2015 (46% vs 15%). Con esta innovación aspiramos mejorar el proceso de enseñanza y de aprendizaje incluyendo el desarrollo y afianzamiento de la destreza para manejar el microscopio como competencia específica en la formación de futuros bioquímicos y/o farmacéuticos, y lograr que relacionen y comprendan los contenidos de nuestra asignatura vinculados con el perfil profesional del egresado de las carreras de Farmacia y Bioquímica.

**8. LA AUTOEVALUACIÓN EN LOS PROCESOS DE ENSEÑANZA-APRENDIZAJE. UNA EXPERIENCIA EN EL CURSO DE ANATOMÍA Y FISIOLÓGIA DEL SISTEMA VISUAL PARA LA TECNICATURA UNIVERSITARIA EN ÓPTICA Y CONTACTOLOGÍA, FFYB-UBA.** <sup>1</sup>C Caniffi, <sup>1</sup>MN Gobetto, <sup>1</sup>F Mendes Garrido, <sup>1</sup>R Elesgaray, <sup>1</sup>A Tomat, <sup>1</sup>M Cerniello, <sup>1</sup>R Hermann, <sup>1</sup>A Balaszczuk, <sup>1</sup>C Arranz, <sup>2</sup>M Torres Suarez, <sup>1</sup>A Calviño. <sup>1</sup>Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. <sup>2</sup>Cátedra de Anatomía e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Nuestra propuesta tuvo como objetivo principal la comprensión de mecanismos anatomo-fisiológicos básicos del sistema visual para alumnos de la Tecnicatura Universitaria en Óptica y Contactología, UBA. La asignatura creada en el 2014, inicia el curso con alumnos cuyas experiencias de aprendizaje previo fueron muy variadas: para algunos, constituyó la materia inicial de la Tecnicatura tras el ciclo secundario, cursado recientemente o luego de varios años; otros cursaron previamente alguna materia troncal; y otros estudiantes ingresaron a la Tecnicatura con experiencia laboral previa en el área.

La diagramación de contenidos se orientó al estudio de la organización de estructuras y mecanismos que permiten sostener adecuadamente las funciones del sistema visual. La asignatura se organizó brindando (A) una introducción anatomo-funcional integrada del sistema visual que correspondió al 15 % de las horas presenciales; (B) la enseñanza de conceptos básicos de biología celular, que incluyeron conocimientos previos de química (25 %); y (C) la relación de estos conceptos con otros de física óptica y geométrica que fueron aplicados a la función del sentido visual (60 %).

En el primer año de la asignatura, incluimos en el curso: clases presenciales de carácter obligatorio complementadas con un espacio virtual "a modo de repositorio" para subir material didáctico, bibliografía e información administrativa en la plataforma Moodle de FFyB. En 2015 se reforzaron los contenidos de las etapas A y B de acuerdo con las necesidades de los alumnos, incorporando clases adicionales sobre anatomía y biología celular. Además, en el Campus Virtual se incluyeron materiales audiovisuales y 3 cuestionarios de autoevaluación de carácter no obligatorio sobre algunos temas de la asignatura desarrollados en las clases. El 75 % de los alumnos participó de estas actividades. En este escenario, observamos un incremento en el porcentaje de alumnos aprobados en los exámenes regulatorios del 2015 vs. 2014 (75 % vs. 56 %, respectivamente). El mayor porcentaje observado en 2015, podría atribuirse a los cambios en el dictado de la asignatura. También, la incorporación de los cuestionarios de autoevaluación pudo influir positivamente en el desempeño de los alumnos, aunque no descartamos otros factores involucrados en el rendimiento académico. Por esto, durante 2016 nos propusimos incorporar una evaluación diagnóstica al inicio de la cursada y esta experiencia nos alienta en la incorporación progresiva de recursos audiovisuales y de contenidos abordados en los cuestionarios de autoevaluación que facilitarían el autoaprendizaje y la autonomía de los alumnos en el abordaje de la asignatura.

**9. RESULTADO DE LOS EXÁMENES FINALES DE ALUMNOS QUE CURSARON DURANTE LOS AÑOS 2009 A 2015 EN LA CÁTEDRA DE FISIOLÓGIA Y FÍSICA BIOLÓGICA.** <sup>1</sup>A Yeves, <sup>1</sup>LF Gonzalez Arbelaez, <sup>1</sup>JC Fantinelli, <sup>2</sup>FR Alvarez, <sup>1</sup>L Vittone. <sup>1</sup>Cátedra de Fisiología y Física Biológica. <sup>2</sup>Cátedra de Cirugía D.

A fin de promover una instancia integradora de los conocimientos teóricos y prácticos, y fomentar la comunicación docente-es

## **IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA**

La Plata - Buenos Aires - Argentina

alumno, la Cátedra de Fisiología y Física Biológica (CFFB) de la Facultad de Ciencias Médicas (UNLP) realizó cambios en su organización y en los instrumentos de evaluación a partir del año 2010. Estas modificaciones incluyeron: la implementación de los exámenes parciales orales (2010) y la participación presencial de los Jefes de Trabajos Prácticos durante el desarrollo de los mismos (2012). **Objetivo.** Analizar si los cambios en la organización de la CFFB se traducen en un aumento del porcentaje de alumnos que aprueban la cursada y el examen final comparando el año 2009 con los posteriores. **Métodos.** Se analizaron datos de la CFFB respecto a los alumnos inscriptos, y aquellos que aprobaron o desaprobaron la cursada; así como las actas de exámenes finales orales de las mesas de noviembre y diciembre desde el año 2009 hasta el año 2015. Con el número de alumnos que aprobaron la cursada se calculó el porcentaje de quienes se presentaron al examen final en las mesas mencionadas. **Resultados.** El porcentaje de estudiantes que aprobó la cursada fue de 83, 72, 68, 75, 85, 75 y 83 % correspondientes a los años 2009 a 2015 respectivamente. En relación a los alumnos que se presentaron al final al terminar la cursada, se observó un aumento entre el año 2009 y 2010 sin modificaciones posteriores (17, 50, 51, 61, 59, 56, 43 % en los respectivos años analizados). Además, se incrementó el porcentaje de estudiantes que aprobó el final desde 2009 a 2015: 77, 91, 79, 96, 89, 93, 98 %. **Conclusión.** A pesar de que el porcentaje de estudiantes que aprobó la cursada no mostró una tendencia de aumento, el porcentaje que rindió el examen final en el mismo año de cursada y el porcentaje que lo aprobó tendieron a ser mayores a partir de las reformas implementadas. Nosotros inferimos que el cambio hacia la evaluación parcial oral y la participación presencial del jefe de trabajos prácticos durante el desarrollo de los mismos, podrían ser en parte responsables de la mejora en el rendimiento de los alumnos durante su año de cursada.

**10. LAS RÚBRICAS COMO HERRAMIENTA DE EVALUACIÓN, UNA EXPERIENCIA EN EL DICTADO DE LA MATERIA FISIOLÓGÍA EN LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UBA.** MG Marina Prendes, R Hermann, D Vélez, V Mestre Cordero, A Balaszczuk, A Varela, A Fellet. Cátedra de Fisiología, FFyB, UBA.

La Cátedra de Fisiología, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, desde hace varios años apuesta al aprendizaje entre pares, colaborativo, con la participación en primer lugar del alumno en la construcción de su propio conocimiento. El docente ocupa, desde esa mirada, la posición de guía, promoviendo el desarrollo de los temas y favoreciendo la discusión de los mismos.

Considerando las incumbencias del docente es que nos propusimos, con el fin de contar con una evaluación más completa del aprendizaje de cada alumno y su desempeño durante las clases, implementar un diseño de rúbrica.

Las rúbricas son guías de puntuación usadas en la evaluación del desempeño de los estudiantes que describen las características específicas de un producto, proyecto o tarea en varios niveles de rendimiento, con el fin de clarificar lo que se espera del trabajo del alumno, de valorar su ejecución y la elaboración del conocimiento. Es una estrategia docente que se utiliza de manera reflexiva para promover el logro de aprendizajes significativos en los alumnos. Debe presentarse desde el primer momento en que se plantea el inicio de las clases, para ser conocida y explicada al grupo estudiantil, así contaran con la aclaración de cada punto incluido en la evaluación.

En la rúbrica construida para este fin, se detallan los aspectos a evaluar y la puntuación a asignar en cada caso. Es muy importante desarrollar criterios significativos, adecuados y comprensibles por los alumnos en el contexto educativo establecido. La rúbrica planteada para el seguimiento de los alumnos privilegia los siguientes aspectos: forma de presentación y empleo del vocabulario específico de la materia, resolución de consignas, participación en la realización de las actividades en el grupo asignado, claridad en la explicación de las actividades, respuesta a los planteos presentados por los compañeros, uso de fuentes bibliográficas, coherencia interna entre los objetivos, contenidos y actividades previstas y, por último, fundamentación teórica. La graduación de calidad de dichos criterios se estableció en valores de 1 a 5 (menor y máxima puntuación).

El seguimiento del trabajo realizado por los alumnos a partir de la incorporación de esta metodología nos permitió acompañar el aprendizaje particular de cada estudiante, ubicando las fallas y las fortalezas de cada uno. Su incorporación nos acercó a las problemáticas específicas de cada alumno, pudiendo implementar un plan estratégico de estudio para cada caso en particular.

**11. VALORACIÓN DE LA INTENSIDAD DE UN EJERCICIO CONTINUO.** C Borgatello, D Souto, L Corra, S Monzón. Instituto Universitario del Gran Rosario.

Se ha informado que los índices de frecuencia cardíaca (FC) y lactato (LC) son modificados por la práctica de ejercicio a diferentes intensidades, siendo el entrenamiento continuo a intensidades bajas y moderadas el tipo de esfuerzo más estudiado. En este se aplica una carga ininterrumpida, sin periodos de descanso, y con duración prolongada, durante el cual se generan constantemente adaptaciones fisiológicas. Los objetivos trazados fueron que los alumnos tengan vivencia y puedan comprobar por un medio práctico aquellos resultados que se ven reflejados en diferentes teorías trabajadas en clases. Participaron alumnos de 4° año con conocimientos de fisiología. Los docentes diagramaron y coordinaron el práctico a



realizar: evaluaciones en reposo y post test de 3000 metros. Los alumnos aplicaron las pruebas a 4 voluntarios deportistas, y luego procedieron a volcar los datos estadísticos: FC, FR, concentración de lactato y puntaje de la escala de valoración del esfuerzo percibido (Borg). Materiales utilizados: cardiotaquímetro Omrom, medidor de lactato Nova, cronómetro, escala de esfuerzo de Borg y planilla de recolección de datos. Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante informes grupales (según planilla), que los alumnos realizaron acorde a las respuestas de los deportistas. En reposo, deportista 1 (D1): 29 años; 82,4 Kg; 1,76 m; IMC 26,6; FC 72; FR 16; lactato 1,7 mmol/l. (D2): 23 años; 1,62 Kg; 1,76 m; IMC 19,8; FC 78; FR 15; lactato 1,8 mmol/l. (D3): 22 años; 79 Kg; 1,71 m; IMC 23,6; FC 70; FR 12; lactato 1,8 mmol/l. (D4): 19 años; 67,5 Kg, 1,80 m; IMC 20,8; lactato 1,7 mmol/l. Post test de 3000 m, (D1): FC 174; FR 21; lactato 8,1mmol/l; Borg 9. (D2): FC 176; FR 20; lactato 7,9 mmol/l; Borg 8. (D3): FC 168; FR 18; lactato 7,8 mmol/l; Borg 8. (D4): FC 178; FR 19; lactato 8 mmol/l; Borg 8. Tiempo de la prueba 12 m promedio con una intensidad estimada del 55% promedio del VO<sub>2</sub> máximo calculado según fórmula de Cooper. Los alumnos mejoraron en el manejo de escalas e instrumentos específicos, aplicando contenidos, y adquiriendo fundamentos para futuros conocimientos. Salir de la metodología del aprendizaje áulico entusiasmo a los alumnos y mejora el aprendizaje. Se prevé elaborar estadísticas en base a los parámetros evaluados agregando medición directa de VO<sub>2</sub>, realizar las evaluaciones en deportes específicos, y comparar con otros métodos de entrenamiento (intermitente).

## **12. PRUEBAS DE EXPLORACIÓN SENSORIAL EN MIEMBRO SUPERIOR. C Borgatello, F Ruiz Moreno, A Kreinin, M Monzón. Instituto Universitario del Gran Rosario.**

La sensibilidad es indispensable para la exploración de las formas y adaptación de los gestos que hacen a la destreza manual por activación de receptores en piel y tejidos profundos. La superficial incluye: tacto-presión (discriminación), dolor y temperatura. Los aspectos clásicos del examen de la función sensitiva mantienen su utilidad, y el profesional auxiliado por la fisiología del sistema nervioso, puede determinar una anomalía sensorial. Los objetivos del trabajo fueron que los alumnos puedan experimentar las pruebas de exploración sensorial; articular los contenidos teóricos con la práctica; favorecer el trabajo intercátedra; y optimizar la aplicación de las pruebas para mejorar la evaluación de pacientes. Participaron 8 alumnos de 2° año con conocimientos previos de fisiología y disfunciones físicas, que aplicaron las pruebas a voluntarios sanos. Los docentes diagramaron, coordinaron y evaluaron el práctico en 3 instancias. Primero se brindó a los alumnos un seminario informativo con demostración práctica y entrega de protocolos previo a las primeras pruebas. Luego en 2 encuentros más, los alumnos aplicaron nuevamente las pruebas y procedieron a volcar datos estadísticos: discriminación de 2 puntos, tacto leve y presión, temperatura e intensidad del dolor. Los materiales utilizados fueron: escalas de evaluación, clips simuladores de 2 puntos, tubos de ensayo y termómetro de agua, alfiler, elemento de punta roma y de goma, y monofilamentos de Semmes-Weinstein. Al final se evaluó el desempeño mediante encuesta cerrada a cada alumno, arrojando los siguientes resultados: conocimientos previos acerca de dolor 3/8; temperatura 5/8; tacto leve y presión 3/8; test de 2 puntos 8/8; monofilamentos 7/8. Conocimientos teóricos-prácticos previos suficientes para la aplicación: Sí 6/8; No 1/8, No sabe 1/8; para el registro: Sí 6/8; No 1/8, No sabe 1/8. Grado de dificultad en aplicación (mayor a menor): temperatura-tacto leve y presión-monofilamentos-dolor; test de 2 puntos. Dificultad en registro (mayor a menor): temperatura-tacto leve y presión-monofilamentos-dolor-test de 2 puntos. Apropiación del instrumento: encuentro n°1 0/8, n°2 1/8; n°3 5/8. Tiempo de demora en la pruebas: encuentro n°1 20,83´, n°2: 16,5´, n°3: 14´. Consultas al docente: encuentro n°1: 9, n°2: 5, n°3: 1. Errores frecuentes: no cuidado del ambiente; falta de descanso entre pruebas; inadecuada posición de la mano; dificultad en aplicar el instrumento (tiempo y gesto). Los beneficios se plasmaron en el trabajo intercátedra (de la teoría a la práctica) con adecuada transferencia de conocimientos, y la propuesta de los docentes es trasladar esta práctica a pacientes, ampliando los instrumentos de evaluación.

## **13. EVALUACIÓN DEL RITMO CIRCADIANO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS. <sup>1</sup>C Borgatello, <sup>1</sup>L Corra, <sup>1</sup>S Cuevas, <sup>1</sup>J Murcia, <sup>1</sup>D Benvenuti, <sup>2</sup>A Decamillis, <sup>2</sup>N García. <sup>1</sup>Instituto Universitario del Gran Rosario. <sup>2</sup>Universidad de Colorado Boulder.**

Los seres vivos disponen de un sistema capaz de medir el tiempo, y como consecuencia presentan oscilaciones en ciertas funciones fisiológicas, repitiendo valores periódicamente en el día. Los objetivos de la actividad fueron registrar en estudiantes de diferentes franjas horarias de cursado las fluctuaciones de variables cardiovasculares, respiratorias, metabólicas y neuromusculares; valorar el cronotipo y correlacionarlo con las variables; y resaltar la importancia del ritmo circadiano para adaptar actividades académicas, promoviendo conductas correctivas. Se evaluaron 30 alumnos en receso invernal (10 por turno: mañana-tarde-noche). Luego del cuestionario matutinidad-vespertina, se midieron: frecuencia cardíaca (FC) y presión arterial media (PAM), frecuencia respiratoria (FR) y peak flow (PF), temperatura axilar (T°), velocidad de reacción visual (VRV), fuerza en mano dominante (FZA) y flexibilidad de musculatura posterior de muslo (FLX); durante un día (1 medición de mañana, 1 de tarde y 1 de noche) y en otros 2 días en similares horarios. Materiales utilizados: oxímetro de pulso, estetoscopio y manguito de presión, medidor de pico flujo, termómetro de mercurio, dinamómetro, varilla milimetrada, cajón

## IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

de flexibilidad, cuestionario de Horne y Ostberg y actograma sueño-vigilia. Resultados: Turno mañana, matutinos: FC 77,6; PAM 86,8; PF 377; FR 16,4; T° 36,2; FZA 20,5; VRV 0,185; FLX +6,5. Vespertinos. TM: FC 77,3; PAM 87,3; PF 393; FR 16,4; T° 36,7; FZA 21,3; VRV 0,17; FLX +6,2. Nocturnos. TM: FC 73,2; PAM 88,33; PF 409; FR 17,5; T° 36,5; FZA 18,1; VRV 0,17; FLX +6,3. Cronotipos: matutino moderado 3, Indefinido 4, Vespertino moderado 3. Sueño promedio 8,5 hs. Turno tarde, matutinos: FC 72,8; PAM 89; PF 456; FR 16,2; T° 36,4; FZA 19,7; VRV 0,186; FLX +8,4. Vespertinos: FC 75,6; PAM 85,7; PF 457; FR 15,9; T° 36,9; FZA 24,9; VRV 0,19; FLX +9,8. Nocturnos: FC 75,6; PAM 85,7; PF 457; FR 15,9; T° 36,9; FZA 24,9; VRV 0,19; FLX +9,8. Cronotipos: Matutino moderado 1, Indefinido 5, Vespertino moderado 4. Sueño promedio 8,9 hs. Turno noche, matutinos: FC 80,9; PAM 91,7; PF 412; FR 17,9; T° 36,3; FZA 19,5; VRV 0,17; FLX +8. Vespertinos: FC 79,7; PAM 94,3; PF 426; FR 17,6; T° 36,5; FZA 21,8; VRV 0,17; FLX +8,9. Nocturnos: FC 79,7; PAM 94,3; PF 426; FR 17,6; T° 36,5; FZA 21,8; VRV 0,17; FLX +8,9. Cronotipos: matutino moderado 1, Indefinido 6, Vespertino 3. Sueño promedio 7,4 hs. Se proyecta aplicar como trabajo de extensión curricular (en ámbitos laborales), y realizar talleres para mejorar el rendimiento según ritmo circadiano.

**14. DESAFÍOS INVOLUCRADOS EN LA INNOVACIÓN DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE FISIOLÓGÍA EN EL MARCO DEL ANÁLISIS DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE ENSEÑANZA UNIVERSITARIA.** <sup>1</sup>R Macri Delbono, <sup>1</sup>M Costilla, <sup>2</sup>A Klecha. <sup>1</sup>BIOMED-UCA-CONICET. <sup>2</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA.

La reflexión sobre las buenas prácticas docentes permite analizar y comprender el proceso de enseñanza y cuando se centran en la identificación de buenas prácticas, constituye un adecuado punto de partida para proyectar innovaciones y para la revalorización pedagógica de la educación universitaria. Con esto presente analizamos los trabajos prácticos (TPs) de Introducción a la Fisiología Celular y Molecular, asignatura electiva de la carrera de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. Para ello se consideró la perspectiva estudiantil, a través del estudio de los resultados de las encuestas de calidad docente que implementa dicha facultad al finalizar cada cursada. Se observa una puntuación positiva creciente en todos los aspectos considerados en tales encuestas y en los comentarios de los estudiantes se detecta su percepción del compromiso docente con la mejora continua. También se analizó el material didáctico ofrecido en la página web departamental como guía para los TPs y su aporte pedagógico dentro del esquema de cursada de la materia que incluye clases teóricas y seminarios. Se destaca en el mismo la coherencia entre las actividades propuestas y los objetivos perseguidos. Los TPs incluyen trabajo experimental, simulaciones computacionales y empleo de herramientas informáticas de análisis de datos. No obstante, evidenciamos que ciertos TPs, como los de Fisiología del Reposo y Ejercicio, se reiteraban en cursadas sucesivas. Estos se caracterizan por un especialmente sólido planteo didáctico, lo que los hace ideales para analizar los desafíos inherentes a una eventual propuesta de innovación. En ellos se propone la medición de variables fisiológicas por electrocardiografía y espirometría, así como también el control de la tensión arterial y la temperatura con el análisis posterior de los resultados y la contestación de una serie de preguntas. Estas actividades permiten relacionar lo visto teóricamente con la práctica de forma tangible, pero su asociación con el futuro profesional es menos perceptible. Por cuanto resultaría innovador reemplazar algunas preguntas por la elaboración de un documento colaborativo (con google drive, wikis, etc) comparando los resultados del Tp con los que se obtendrían en otras condiciones fisiológicas como edad avanzada o bien en otros mamíferos. Complementariamente se podrían discutir las contribuciones bibliográficas de los estudiantes en foros con moderación docente. Esto promovería la adquisición de un manejo profesional de las herramientas de información y comunicación con vistas a la formación continua.

**15. ENSEÑANZA-APRENDIZAJE EN MORFOFISIOLÓGÍA: HERRAMIENTAS PARA LA COMPRESIÓN DEL VOCABULARIO CIENTÍFICO. EXPERIENCIA DE UN TALLER.** <sup>1</sup>MF GARCÍA BUSTOS, <sup>2</sup>A BERGAGNA, <sup>2</sup>N CARDOZO, <sup>2</sup>N AGUIRRE, <sup>2</sup>P ORTIZ, <sup>1</sup>PG RAGONE, <sup>1</sup>SR TAMAYO. <sup>1</sup>Cátedra de Anatomía y Fisiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta <sup>2</sup>Servicio de Orientación y Tutoría, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta.

Reunión Anual y IV Encuentro de Docentes de Fisiología-October 5-7, 2016 Hospital Universitario Integrado, Facultad de Ciencias Médicas UNLP-La Plata, Argentina.

Introducción: Morfofisiología es una materia de primer año de las Carreras de Nutrición y Enfermería de la Facultad de Ciencias de la Salud. Anualmente la cursan aproximadamente 1300 estudiantes; un porcentaje cercano al 45% la regulariza, mientras que el resto no asiste, abandona o queda libre. Esta situación constituye un complejo problema multicausal, al que contribuyen múltiples factores. El siguiente trabajo pretende abordar una experiencia, que intenta hacer frente a una realidad recurrente y propia del primer año. Desde la Cátedra, en trabajo conjunto con el Servicio de Orientación y Tutoría de la Facultad, se identificaron algunas dificultades referidas por los estudiantes, tales como la falta de entrenamiento en el lenguaje "técnico" de la asignatura, que se caracteriza, entre otros aspectos, por su complejidad. Para dar una respuesta a esta situación, se desarrolló el taller denominado "Herramientas para la lectura de textos de Morfofisiología", dirigido a estudiantes que cursan regularmente la materia.



#### Propósitos del Taller:

- Generar un espacio de intercambio de experiencias en torno a la alfabetización académica.
- Reflexionar sobre las prácticas socioculturales de la lectura y su vínculo con la producción de conocimientos.
- Promover la reflexión sobre el libro de lectura básica de la asignatura (Tortora - Derrickson. Principios de Anatomía y Fisiología).

Desarrollo: el taller se desarrolló de manera articulada entre los docentes de Morfofisiología y los responsables del Servicio. De manera general, la jornada permitió profundizar en aspectos referidos a la importancia de la lectura en el ámbito académico y en las primeras experiencias en este proceso. Los docentes de la Cátedra trabajaron desde ejemplos concretos y expusieron nociones generales sobre las exigencias y particularidades de la lectura y escritura en el campo de la materia. Por otra parte, se profundizaron cuestiones relacionadas a la utilización del texto de referencia, haciendo un recorrido por los diferentes capítulos, íconos informativos y actividades de evaluación. En coherencia con la Metodología Taller, se promovió el intercambio entre docentes, tutores y participantes.

Valoración de la experiencia: los estudiantes valoraron como altamente positivo los aportes realizados por el taller a su formación; en particular, rescataron la importancia de la lectura académica y la interpretación y uso de la iconografía utilizada en la obra de referencia. Del proceso de reflexión realizado en el marco del Taller, surgió como necesidad explícita de los estudiantes, un espacio permanente para trabajar la lectura y la escritura académica.

#### **16. ANÁLISIS DE LA RESPUESTA CARDIOVASCULAR AL EJERCICIO INTENSO: MÉTODO AUTOAPRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS.** G Giorgi, MF Fernández Delias, A Elia, E Nielsen, ME Roque. Fisiología- BByF- Universidad Nacional del Sur.

Introducción: El Aprendizaje Basado en Problemas (ABP) constituye uno de los nuevos paradigmas de la educación superior (Mac Master, Canadá). El ABP se caracteriza por el autotutoraje en grupos pequeños, supervisión tutorial y evaluación continua. En Fisiología de Bioquímica y de Farmacia de la UNS, implementamos el ABP en Fisiología Cardiovascular para enfatizar el autoaprendizaje y la participación activa en grupos pequeños. Objetivos: Seguimiento del progreso de cada estudiante como parte integral del proceso de enseñanza-aprendizaje en Fisiología Cardiovascular (2011-2015). Metodología del Recurso Pedagógico (ABP): La respuesta cardiovascular al ejercicio en individuos con alteraciones funcionales (cuadruplémicos, trasplantados, seniles) se utiliza como herramienta didáctica para compararla con la función cardiovascular de adultos sanos (Patil R et al, 1993). La metodología de ABP está organizada en Encuentros: 1° ENCUENTRO: Revisión de objetivos. Presentación de Recursos Pedagógicos: grupos pequeños con supervisión Tutorial, autoaprendizaje, teóricas interactivas, bibliografía. Formación de grupos de autoaprendizaje con un Tutor/grupo; 2° ENCUENTRO: Análisis grupal interactivo de la respuesta al ejercicio de los parámetros cardiovasculares en función del consumo de oxígeno; 3°-4° ENCUENTROS: Se intensifica el aprendizaje interactivo. Resuelven interrogantes pendientes, formulan hipótesis y llegan a conclusiones; 5° ENCUENTRO: Análisis integrativo y conclusiones finales. Resultados: los estudiantes con activa interacción grupal y uso de los recursos pedagógicos disponibles logran evaluaciones cualitativas satisfactorias y cuantitativas con altos puntajes (80-100,  $p < 0,01$ ) versus los que muestran menor interacción grupal y menor uso de recursos pedagógicos (40-70,  $p < 0,01$ ). Conclusiones: El proceso integral de evaluación del ABP facilita la comprensión de fisiología cardiovascular mejorando el rendimiento curricular.

#### **17. EL CÍRCULO COMO DISPOSITIVO DE REFLEXIÓN.** SP Langton, DO Cristaldo, CP Serrano, MC Gauna Pereira. FaCENA-UNNE.

La educación en el aula genera una relación intencional entre docentes y alumnos en un contexto que la enmarca. Induce respuestas en ambos en función del proceso vivenciado. Es una transformación compleja e involucra factores emocionales, cognitivos, socioculturales entre otros. Lograr un aprendizaje reflexivo y significativo, requiere buscar estrategias que promueva un estado emocional adecuado, permitan la incorporación de nuevos conocimientos, el desarrollo de destrezas, habilidades y actitudes positivas. El círculo, como recurso pedagógico brinda el marco ideal para conseguir un aprendizaje reflexivo, generando nuevas formas de intervención docente y diferentes respuestas de los alumnos.

Para demostrarlo, en la asignatura Fisiología Humana de la carrera de Bioquímica en la FaCENA - UNNE, se planificaron 10 Trabajos Prácticos de Laboratorio (TPL). En los mismos, se programaron 45 minutos al final, previstos exclusivamente para el cierre de las actividades de cada jornada integrando lo aprendido en los TPL con las clases teóricas.

Este año se contó con 28 alumnos que fueron asignados a dos Comisiones para los TPL. Una vez finalizadas las tareas previstas, se los invitó a formar un círculo. Los docentes formaron parte del mismo y dirigieron las diferentes instancias.

La primera de ellas siempre fue netamente académica y se realizaron preguntas relacionadas con el TPL, tales como: “¿Qué no entendiste?” o “¿Qué fue lo nuevo?” o “¿Qué fue lo que más te costó?”. Todos los alumnos debieron responder y todos escucharon sus respuestas. La segunda instancia involucró un componente personal en cada uno de ellos con preguntas como “¿Qué te gustó?” o “¿qué no te gustó?” permitiendo que cada alumno pueda exponer con sinceridad todas las

## **IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA**

La Plata - Buenos Aires - Argentina

situaciones vividas durante el desarrollo de los TPL. Finalmente se dio una pregunta final dirigida al aspecto netamente emocional como: “¿A quién agradecerías hoy por estar estudiando?” o “Si tuvieras \$200: ¿a quién se lo regalarías y por qué?” o “¿En qué crees que eres muy bueno?”

Logros alcanzados (medidos en evaluación procesual): Consolidación del grupo, mejoramiento de las expresiones orales, mayor comunicación efectiva, desarrollo de franqueza y cordialidad en la relación docente alumno, mayor expectativa y compromiso, incremento de alumnos regulares.

El círculo situó a los protagonistas en posiciones equivalentes, donde todos fueron escuchados, se promovió la reflexión de docentes y alumnos, permitió que los alumnos se expresen con total libertad y manifiesten su realidad ante sus pares docentes, vivenciándolos como personas con quienes pueden aprender y aprehender.

**18. PLANIFICANDO NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA ESCUELA DE AYUDANTES DE FISIOLÓGÍA.** M Giovanelli, L Ferrando, M Murillo, P Scacchi, C Reyes Toso, P Viglione. Unidad Académica 2 Fisiología. Facultad de Medicina. UBA.

Introducción: Actualmente la Escuela de Fisiología de la Unidad Académica II está dividida en 2 Rotaciones: R1 (Sangre, Cardiovascular, Respiratorio y Renal) y R2 (Digestivo, Endocrino y Neurofisiología) por lo que los aspirantes interesados deben optar por una de ambas al postularse como tales. Durante 1 año se los capacita y entrena promoviendo la construcción de un saber pedagógico didáctico. Se trata que adquieran y resignifiquen núcleos de conocimientos y saberes relacionados con la rotación elegida, a través de la aplicación de diversas actividades tales como exposiciones orales, desarrollo de competencias, evaluaciones, etc. Creemos, sin embargo, que es necesario intentar subsanar dos escollos: 1) Grado de inseguridad que demuestran los nuevos auxiliares docentes frente a la temática clínica dado que la mayor parte no ha cursado muchas más asignaturas que los alumnos que tienen a su cargo; 2) Carencia de una instancia común a ambas rotaciones que propicie el intercambio activo entre todos los escolarantes.

Propósito: a) Promover un ambiente de trabajo conjunto entre ambas rotaciones incentivando el aprendizaje cooperativo; b) Desarrollar una metodología de trabajo, sustentada en la aplicación de situaciones problema, que los capacite e introduzca en el ámbito fisiopatológico.

Metodología: Se proyecta la realización de encuentros periódicos entre ambos grupos (R1 y R2) coordinados por docentes y tutores. En los mismos se procederá al planteo de casos clínicos que involucren temáticas de ambas rotaciones. Se conformarán equipos mixtos de trabajo aspirando a que cada uno de ellos intente, a través de la recuperación de los saberes previos y la aplicación del pensamiento lógico-deductivo, una mejor comprensión de la fisiopatología de diversas enfermedades. A los efectos de dinamizar el ejercicio propuesto se les permitirá la búsqueda bibliográfica de trabajos de revisión y/o artículos referidos a la temática propuesta utilizando para ello medios digitales tales como teléfonos celulares o tablets. Esta instancia estará supervisada y monitorizada por tutores responsables. La idea directriz es que adquieran la capacidad de poder diferenciar y jerarquizar fuentes confiables de búsqueda de aquellas que no cuentan con aval científico. Se contempla la realización de una encuesta anónima semiestructurada para poder evaluar la repercusión y el nivel de satisfacción sobre la metodología propuesta

Conclusiones: Esperamos poder acrecentar la integración global de los escolarantes en el contexto de esta asignatura, así como generar una nueva estrategia motivacional que se sume a las actualmente usadas.

**19. ENTRENANDO CON MODELOS DE SIMULACIÓN VIRTUAL PARA RESOLVER CASOS CLÍNICOS DESDE LA FISIOLÓGÍA.** GC Bortolazzo, C Bortolazzo, MP Reyes, G Busch, CJ Quevedo Figun, C Reyes Toso.

La Resolución 1314/07 del Ministerio de Educación de la Nación Argentina, determina evaluar la Carrera de Medicina con estándares basados en las competencias profesionales, en este camino, la enseñanza de fisiología debe estar orientada a la introducción del alumno en el conocimiento y pensamiento clínico; los contenidos deben presentarse como una introducción a la fisiopatología, semiología, clínica y terapéutica. La práctica médica educacional muchas veces ha transgredido el aforismo hipocrático “primum non nocere”, la seguridad en la atención del paciente se contrapone a las necesidades del entrenamiento médico, en el cual estudiantes sin experiencia realiza acciones que deterioran la calidad de la atención, determinando que estas prácticas deban ser muy restringidas.

Los modelos tecnológicos de simulación clínica ayudan a disminuir esta situación contribuyendo a la adquisición de competencias como paso previo a la práctica en pacientes, permiten comprender la estructura biológica funcional normal del ser humano tanto en la individualidad de la fisiología y biofísica como en la integración de los mecanismos ante cambios externos e internos; adquirir un enfoque científico para la integración de los conocimientos con un objetivo clínico definido; desarrollar la capacidad de autoaprendizaje y autoevaluación e incorporación de material científico complementario.

Metodología:

Desde el año 2013 se realiza una simulación clínica con la plataforma USINA de la Universidad de Buenos Aires, que permite al





alumno a partir de un caso problema seguir diversos caminos para su resolución. Posteriormente se forman grupos de alumnos con un tutor para la discusión del caso mediante metodología de taller.

Se realizó en 2016 una encuesta semicerrada entre los docentes y alumnos participantes para conocer sus opiniones.

Resultados:

Para el 80 % de los docentes y el 37,5% de los alumnos es su primera experiencia en modelos de simulación virtual. Los docentes opinaron: 71,73 % permite integrar los temas desde la perspectiva de la práctica clínica y 58,69 % posibilita el aprendizaje por casos independiente del horario curricular.

Los alumnos opinaron: 83,33% que resolvieron el caso con los conocimientos de la cursada de fisiología, 65,97% el material bibliográfico complementó el curricular, 76,38% integraron y autoevaluaron los conocimientos, 75% utilidad como paso previo a la práctica con el paciente.

Conclusiones:

La intervención educativa efectuada fue favorablemente aceptada por docentes y alumnos, coincidiendo ambos que contribuye a la integración de los conocimientos y al acercamiento con la práctica profesional real ante un paciente.

Palabras Clave: casos-clínicos; simulaciones; taller; fisiología; medicina.

**20. ESTILOS DE APRENDIZAJE EN LOS ESTUDIANTES DE LA CÁTEDRA DE FISIOLÓGIA HUMANA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNNE EN RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO ACADÉMICO.** SA Domínguez Machado, EM Fages, C Gutiérrez, JO Ponce, VC Rosende, RP Juárez. Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste.

El objetivo de este trabajo fue diferenciar los estilos de aprendizajes presentes en los estudiantes de la Cátedra de Fisiología Humana en relación con el rendimiento académico (RA) inmediato (calificaciones), para reflexionar sobre las actividades de enseñanza-aprendizaje de la Cátedra y como insumo del proceso de cambio curricular que se está llevando a cabo en la Facultad.

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal, durante el año 2014, en 177 estudiantes de la Cátedra de Fisiología Humana de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Las variables estudiadas fueron los estilos de aprendizaje y las calificaciones. Se utilizó el Cuestionario de EA Honey-Alonso (CHAEA). Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de varianza, Chi-cuadrado de Pearson y correlación de Pearson, considerándose significativo valores  $p < 0,05$ .

El perfil de aprendizaje de los estudiantes mostró un predominio de los estilos reflexivo (EAR:  $M = 14.84$ ;  $DS = 2.68$ ) y teórico (EAT:  $M = 13.46$ ;  $DS = 2.72$ ). En tercero y cuarto lugar, pragmático (EAP:  $M = 13.07$ ;  $DS = 2.48$ ) y activo (EAA:  $M = 11.84$ ;  $DS = 3.08$ ).

La diferencia entre los EA fue estadísticamente significativa ( $p < 0,0001$ ). Al aplicar la prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo con el criterio de Tukey, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los EAT y EAP. Los EAA y EAR mostraron diferencias significativas con los otros EA. No se observó correlación entre EA y RA. Tampoco, se encontró diferencia significativa en los estilos de aprendizaje por género y edad.

Los estudiantes del segundo año de la Carrera de Odontología, área básica del Plan de Estudios, tienden a ser receptivos y analíticos, priorizando la reflexión y la teoría. Con respecto al segundo objetivo, la falta de correlación entre RA (inmediato, calificaciones) y EA, muestra que existen otros factores del proceso enseñanza-aprendizaje y del contexto institucional y social, que posiblemente inciden sobre el RA.

Palabras claves: estilos de aprendizaje, rendimiento académico, cuestionario CHAEA.

**21. MEDIDA DE DISTENSIBILIDAD EN PULMONES AISLADOS DE RATA: DEMOSTRACIÓN DEL EFECTO DE LA TENSIÓN SUPERFICIAL.** RE Araya, N De Francesco, PL Smaldini, MB Iarossi, ML Lastra, F Pérez, A Rebolledo, GJ Rinaldi. Cátedra de Fisiología (Bioquímica), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Uno de los TP de nuestra Cátedra consiste en la medición de la distensibilidad de un pulmón aislado de rata. La interfase aire-líquido en la superficie alveolar determina la existencia de tensión superficial (TS) en el líquido, la cual disminuye la distensibilidad pulmonar (DP). Si bien el surfactante pulmonar disminuye la TS, ésta continúa siendo importante. Los métodos para medir la TS de un líquido suelen ser bastante dificultosos (Ej: balanza de torsión de Du Noüy). Nuestro objetivo fue desarrollar un sistema de medición de la TS sencillo, preciso, y portátil, para demostrar la contribución de la TS a la DP total, y el rol del agente surfactante.

Materiales y métodos: A) Se extraen en bloque tráquea y pulmones de una rata. Se canula la tráquea y se suspende al preparado dentro de un recipiente cerrado de acrílico que funciona como jaula torácica. Por el desplazamiento de un tapón de espuma en una bureta graduada se mide el aire que ingresa o egresa de los pulmones. Una segunda cánula conecta con el "espacio intrapleural" determinado entre el pulmón y las paredes del frasco. Mediante una jeringa se puede disminuir o

## IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

aumentar la presión intrapleur, provocando ingreso o egreso de aire de los pulmones. Se calcula la DP mediante la relación  $\Delta V/\Delta P$  en cada punto.

B) Se suspende de un transductor de fuerza un anillo circular de alambre, que se sumerge en solución fisiológica (SF) y luego se eleva en forma manual o motorizada. Se forma una película superficial de SF que incrementa la fuerza hasta que se rompe; en ese punto se mide la fuerza y se calcula la TS.

C) se desmontan los pulmones y se lavan con SF a través de la tráquea, recogiéndose el efluente, en el cual se repite la medición de TS descrita en (B).

Resultados: La TS del efluente fue un  $40 \pm 5\%$  menor a la TS de la SF ( $n=10$ ), demostrando la acción del surfactante pulmonar. El sistema descrito presenta ventajas con respecto a la balanza de torsión de Du Noüy: alta reproducibilidad, registro prácticamente sin ruido en formato digital que puede ser tomado por los alumnos para realizar cálculos y mediciones.

Conclusiones: un sistema como el descrito permite demostrar a los alumnos la importancia que tiene la TS en la mecánica respiratoria, y la elaboración de factor surfactante por parte del pulmón.

**22. ENTORNOS PERSONALES DE APRENDIZAJE: UTILIZACIÓN DE LA PLATAFORMA USINA COMO PROCESO DE AUTO-EVALUACIÓN DE LOS ESTUDIANTES.** MP Reyes, GC Bortolazzo, CF Reyes Toso. Unidad Académica II, Departamento de Ciencias Fisiológicas; Facultad de Medicina; Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155 Piso 7 Sector Uriburu. C1121ABG.

Fiedler y Pata (2009) definen un Entorno personal de aprendizaje (PLE) como una colección de instrumentos, materiales y recursos humanos que el estudiante usa en un determinado momento en el contexto de un proyecto educativo. Siguiendo esa misma línea de pensamiento, Adell y Castañeda (2010) conciben el PLE como el conjunto de herramientas, fuentes de información, conexiones y actividades utilizadas habitualmente por el estudiante. Attwell (2007) propone una definición similar que describe el PLE como un cambio en la práctica pedagógica hacia un aprendizaje abierto, social y centrado en el estudiante.

La Idea:

-Fue despertar el interés de los estudiantes a través de la reflexión sobre lo que ellos creen que saben sobre el sistema nervioso autónomo, tema importante para el conocimiento de Fisiología. Por medio de este simulador pueden observar sus propios procesos de aprendizajes y dirigir este interés hacia el desarrollo profesional a través de PLE, y

-Construir un PLE integrando los recursos y servicios (seminarios, trabajos prácticos, manuales recomendados) que ya utilizaba cada educando, con otros nuevos (Web 2.0), tras su identificación y análisis en base a las necesidades personales de cada docente.

La implementación:

Al comenzar la cursada trabajamos con la guía de trabajos prácticos (GTP) luego de escuchar el teórico correspondiente. Dentro de la GTP se incorporó una actividad que debían realizarla en sus casas a través de una simulación empleando la plataforma USINA. Realizaron la simulación 415 alumnos. Al volver a la siguiente clase sus ayudantes podrían evaluar cuantas veces sus alumnos tuvieron que realizar la simulación para llegar al resultado correcto y cuál era el grado de dificultad alcanzado en las mismas. Luego, de ser necesario, junto con el Jefe de trabajos prácticos se pasaría a resolver sus dudas.

Realizamos una encuesta a los alumnos de la cátedra ( $n=144$ ) preguntando si el caso clínico de la plataforma usina lo motivó a buscar información adicional dando una respuesta positiva en el 75% y el 65.27% sintió la necesidad de analizar el caso clínico en la mesa de discusión para lograr un máximo aprovechamiento.

Conclusión:

La integración de simuladores como parte de los escenarios donde se desarrolla la acción formativa ha sido una excusa para estimular la creación de redes, para facilitar la conexión entre los educandos y los educadores de la cátedra, generando conexiones más fuertes entre los propios alumnos a través de la resolución de problemas comunes.

**23. EL ESTUDIO DE LA FISIOLÓGÍA CELULAR COMO BASE PARA LA COMPRENSIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DE LOS DISTINTOS SISTEMAS: EXPERIENCIA EN EL CAMBIO DE LA METODOLOGÍA DE ENSEÑANZA EN LA MATERIA DE FISIOLÓGÍA PARA LA CARRERA DE FARMACIA.** AR Roldán Palomo, I León, M Moncada, MJ Tolosa, N Enrique, P Mobili, V Milesi. Facultad de Cs. Exactas-UNLP.

En el año 2015 implementamos en la asignatura fisiología, un cambio en la metodología de enseñanza que tuvo como objetivo lograr que el alumno aprenda los mecanismos celulares básicos, como paso previo al estudio del funcionamiento de sistemas del organismo humano. Este cambio surgió del análisis de años anteriores (resultados de evaluaciones, comentarios de alumnado, nuestra propia percepción del aula) donde los alumnos podían cursar toda la materia sin haber comprendido los conceptos básicos necesarios para entender los sistemas más complejos.

Como alternativa, se reestructuró la materia en dos módulos:

- modulo I: mediante metodología teórico-práctica se abordaron los conceptos básicos de fisiología celular. El mismo abarcó el



primer mes de cursada y se evaluó al finalizar este módulo. Luego de cada evaluación se realizó una clase de resolución del parcial, sin abordar nuevos temas hasta finalizadas dichas evaluaciones.

- módulo II: abordamos con la misma metodología, el estudio de los sistemas utilizando los conocimientos ya aprendidos en el módulo I como punto de partida.

En ambas modalidades la evaluación de Fisiología de los Sistemas consistió en un problema para cada sistema, cada uno de los cuales podía ser promocionado, aprobado o desaprobado.

Al comparar las cohortes 2013-2014 y 2015 observamos en la nueva modalidad, una mejora general en el rendimiento y una mayor participación de los alumnos en clase. Cuantitativamente, se observó una disminución significativa de los desaprobados en Sistema cardiovascular (2013-14 D=19% vs 2015 D=8%,  $p < 0.05$  chi cuadrado) y en Sangre e inmunidad (2013-14 D:12%, vs 2015 D:3%  $p < 0.05$  chi cuadrado).

Además, se realizó una encuesta al término de la cursada 2015 donde el 67% de los comentarios destacaron aspectos positivos (respuestas más frecuentes: “el modulo I es útil y necesario para entender la fisiología de los sistemas” y “nos ayuda a no tener que estudiar de memoria ya que nos permitió razonar”) y el 33%, mencionaron aspectos negativos (respuestas más frecuentes: “el modulo I nos pareció extenso” y que “son necesarios más ejercicios”).

Concluyendo, esta nueva metodología es beneficiosa ya que ofrece tiempo para la asimilación de conceptos básicos lo que se evidencia en: la participación en clase utilizando dichos conceptos para la comprensión del funcionamiento de los sistemas; las evaluaciones, con una mejora en la claridad conceptual, en la redacción y una disminución significativa de desaprobados en dos temas evaluados; y los resultados obtenidos en las encuestas donde se manifiestan fortalezas y debilidades de la metodología.

**24. ¿CÓMO INFLUYE EL TRABAJO DE LABORATORIO EN LA MOTIVACIÓN DEL ESTUDIANTE DE FISIOLÓGIA? CA Valverde, M Salas, L Vittone, MM Said. Cátedra de Fisiología y Física Biológica – Facultad de Ciencias Médicas – Universidad Nacional de La Plata.**

Desde el inicio de la educación universitaria, el trabajo de laboratorio ha tenido un papel central y distintivo para la enseñanza y el aprendizaje de las ciencias, no solo porque desarrolla las técnicas procedimentales entre los estudiantes sino también, porque fomenta la aplicación del método científico entre el alumnado. A pesar de que resulta motivador realizar experimentos o mediciones de respuestas fisiológicas (TPL) en los mismos estudiantes, esta actividad ha ido en desmedro en el último tiempo debido a que requiere mayor dedicación docente y es más costoso. Debido a esto, en muchos casos el experimento es reemplazado por una simulación usando computadoras (TP). Dado que la motivación es un condicionante del aprendizaje y el éxito académico, consideramos que es muy importante examinar cómo influye en esta variable, el trabajo práctico de laboratorio (TPL). Para ello, realizamos una encuesta individual y anónima, a 166 estudiantes de 2do año de la carrera de Medicina de la Universidad Nacional de La Plata. Entre otros ítems, les solicitamos que indicaran si a su criterio, los contenidos de los TP le habían resultado útiles para el aprendizaje y cuáles de ellos los habían motivado más, diferenciando según fuera una actividad experimental (TPL) o una que implicara sólo el uso de PC (TP). La mayor parte de los estudiantes (96%) informaron que el TPL fue muy importante para el aprendizaje de conceptos complejos y de procesos fisiológicos (por ejemplo la respuesta cardíaca a intervenciones parasimpáticas). En cambio, las simulaciones por computadora, fueron preferidas solo por el 4% de los alumnos encuestados. Estos resultados tienen implicancias prácticas en el aula: encontrar ejercicios de laboratorio es motivador para los estudiantes, a pesar de sus diferentes intereses y preferencias personales. Esto pone de relieve la importancia de no sustituir las prácticas de laboratorio por otros enfoques más teóricos.

**25. DESARROLLO DE UNA HERRAMIENTA DIDÁCTICA PARA LA ENSEÑANZA DE CONCEPTOS DE METABOLISMO: UN RESPIRÓMETRO PARA PECES SIMPLE Y ECONÓMICO.** <sup>1</sup>ED Speranza, <sup>2</sup>AC Ferreira, <sup>2</sup>E Ambrosio, <sup>3</sup>S Mosca. <sup>1</sup>Laboratorio de Química Ambiental y Biogeoquímica, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (LAQAB, FCNyM, UNLP) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), <sup>2</sup>Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet", Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (ILPLA, FCNyM, UNLP/CONICET) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), <sup>3</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Horacio E. Cingolani", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (CIC, FCM, UNLP/CONICET) Consejo Nacional de Investigaciones.

El consumo de oxígeno (Vo<sub>2</sub>) es el parámetro más usado para la estimación de la actividad metabólica y su relación con otras variables fisiológicas y ambientales. Con el fin de realizar en el aula experiencias prácticas sencillas y claras vinculadas a esta temática, se desarrolló un respirómetro para medir el Vo<sub>2</sub> en peces. El mismo consiste en un circuito cerrado de flujo continuo impulsado por una bomba eléctrica sumergible y está provisto de un oxímetro con electrodo de Clark dispuesto en un compartimiento con agitación permanente. El dispositivo fue probado como parte de un trabajo práctico en el aula por

## IV ENCUENTRO NACIONAL DE DOCENTES DE FISIOLÓGÍA Y FÍSICA BIOLÓGICA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

alumnos de fisiología animal, asignatura de 5to año de la licenciatura en Biología (FCNyM, UNLP) con peces de agua dulce nativos (*Australoheros facetus*) de distintas tallas. Se registraron valores de  $Vo_2$  de entre 93 y 468 mg hr<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>, observándose claramente la relación inversa del  $Vo_2$  con la masa corporal y su aumento con la temperatura ambiente. A esta experiencia se le agregaron otras actividades de respirometría y se integró el análisis de los resultados con la discusión de conceptos claves de metabolismo desde una perspectiva comparada.

Entre las ventajas que ofrece el dispositivo propuesto se encuentra su relativamente simple construcción, su bajo costo económico, su sencillo uso y su carácter no invasivo (no se registró mortandad de peces durante las mediciones). Asimismo, los peces utilizados en esta actividad constituyen una alternativa ventajosa a los animales de laboratorio tradicionales, ya que son fáciles de obtener, altamente resistentes y su manipulación no es riesgosa para los alumnos; al mismo tiempo, los resultados de la experiencia pueden ser extrapolados a otros vertebrados. La actividad propuesta permite la participación activa de los alumnos y favorece la comprensión de la relación clave del metabolismo con la temperatura y la masa corporal, pudiendo extenderse su aplicación al estudio de la variación de la actividad metabólica entre especies y con otras variables (ej. estrés, pH, salinidad). Por esto, la innovación didáctica aquí presentada podría ser de gran utilidad para la enseñanza de esta temática clave que integra los diversos ejes de conocimiento de la fisiología animal.

### 26. LOS MAPAS CONCEPTUALES COMO METODO EVALUATORIO Y PROMOTOR DE ACTIVIDADES DE EXTENSION E INVESTIGACION. PN Viglione, E Kelly. Instituto Universitario CEMIC.

Introducción: Hoy en día, las Universidades deben tener como proyecto educativo un currículo integrador que relacione tres pilares fundamentales como son la docencia, investigación y extensión. Por lo tanto, es de suma importancia diagramar para el alumnado, metodologías de trabajo que faciliten el proceso enseñanza-aprendizaje y contribuyan a introducirlos de manera activa en tareas de investigación y difusión.

Los mapas conceptuales son herramientas de usos múltiples dado que actúan como instrumento evaluatorio y estrategia pedagógica de indiscutida eficiencia en el logro del aprendizaje significativo. Su aplicación como metodología formativa permite determinar el tipo de estructura cognoscitiva alcanzada por los alumnos sobre un tema en cuestión, así como desarrollar competencias que pueden ser utilizadas en contextos extrainstitucionales.

Propósitos: a) Promover en los estudiantes la construcción activa del aprendizaje a través de la preparación de mapas conceptuales que reflejen los conocimientos adquiridos sobre un tema de la asignatura, b) Incentivar la presentación ulterior de dicho material en ámbitos educativos y/o científicos, c) Fomentar en el alumnado la participación en prácticas de índole comunitaria sustentadas en el conocimiento científico adquirido dentro del marco universitario.

Desarrollo: Se diseñó una estrategia de trabajo consistente en tres etapas: 1°) Los docentes de la asignatura Fisiología realizamos una exposición oral del tema "Fisiología de la reproducción", lo cual sirvió como marco teórico referencial. Se les explicó a los alumnos, los lineamientos inherentes a la construcción de un mapa conceptual. 2°) Se conformaron al azar 8 grupos de trabajo. Cada uno de ellos debía elaborar un mapa sobre "Metodologías anticonceptivas" usando para ello los contenidos desarrollados en clase y enriqueciéndolo con una búsqueda bibliográfica relacionada con dicha temática. 3°) Cada equipo realizó una presentación oral del material confeccionado siendo evaluados en función de la jerarquización conceptual, la lógica aplicada en la realización de la tarea, las habilidades comunicacionales demostradas, así como el grado de compromiso asumido.

Resultados: Uno de los grupos participantes presento su trabajo en las Jornadas Científicas "Norberto Frega" organizadas por CEMIC, reflejando las competencias y conocimientos adquiridos como resultado de la actividad propuesta. Varios estudiantes consideran la posibilidad de brindar charlas supervisadas en centros comunitarios y colegios sobre el tema tratado.

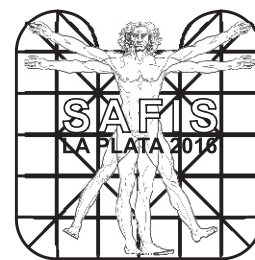
Conclusiones: Es prioritario aplicar estrategias de enseñanza y aprendizaje que logren transformar al alumno pasivo-receptor en constructor activo de una formación integral que contemple el desarrollo curricular teórico, así como la participación en actividades de extensión e investigación.

### 27. VALORACIÓN DEL DESEMPEÑO DOCENTE SEGÚN LA PERSPECTIVA DE LOS ESTUDIANTES DE FISIOLÓGÍA DE LA LICENCIATURA EN NUTRICIÓN- UBA. <sup>1</sup>ML Wallinger, <sup>1</sup>F Berenguer, <sup>1</sup>MC Sandoval, <sup>1</sup>SA Taddei, <sup>1</sup>ML Gaillard, <sup>2</sup>LM Linares, <sup>2</sup>CF Reyes Toso. <sup>1</sup>UBA- Facultad de Medicina- Licenciatura en Nutrición. <sup>2</sup>UBA- Facultad de Medicina- Departamento de Ciencias Fisiológicas, Unidad Académica II.

Introducción: La docencia universitaria es una actividad compleja que requiere de la comprensión del fenómeno educativo. Para algunos autores la función docente se encuentra centrada principalmente en las acciones que se deben ejecutar para lograr el propósito específico de la satisfacción del estudiante. Se acepta entonces, que a través de la recolección de la opinión de los mismos, se podría obtener la información necesaria para retroalimentar la función docente. Objetivo: valorar la opinión de los estudiantes con relación al desempeño de los docentes de Fisiología de la Licenciatura en Nutrición (Facultad



de Medicina UBA). Materiales y Métodos: se encuestaron estudiantes (n: 104 por muestreo consecutivo) que habían cursado y regularizado la materia durante el ciclo lectivo 2015 y que se presentaron al examen final del llamado de diciembre de 2015. El cuestionario fue auto-administrado, y anónimo. En una primera sección del mismo se realizaron preguntas cerradas sobre la importancia de los contenidos de la materia para su formación profesional, la adecuación del material bibliográfico ofrecido, los temas que presentaron mayor dificultad para su comprensión. En una segunda parte, se pidió la valoración de distintos aspectos del desempeño docente a través de una escala descriptiva valorativa, diferenciando las actividades teóricas de las prácticas. Resultados: el 85% respondió que los contenidos de la materia son Fundamentales (41%) o Muy Importantes (43%) para su formación profesional. Con relación a la satisfacción con el desempeño docente en las clases teóricas, los tópicos que mayor satisfacción (Muy Satisfactorio) obtuvieron fue Conocimiento (62%) y Respuesta Adecuada a las consultas (47%). Con relación a las actividades prácticas todos los tópicos obtuvieron un alto grado de satisfacción (Muy Satisfactorio): Conocimiento (75%); Promoción de la discusión (73%); Presentación de los contenidos (70%); Manejo adecuado dinámica grupal (66%); Mantenimiento de interés (54%); Puntualidad (70%). La bibliografía fue considerada adecuada en un 52%, y los temas identificados como de mayor dificultad fueron: Fisiología renal y Neurofisiología. Conclusiones: los estudiantes mostraron un alto grado de satisfacción con respecto a los contenidos de la materia, así como con el desempeño docente. Se destaca una valoración superior en las áreas prácticas de la materia, posiblemente por las dinámicas utilizadas en las mismas. Estos resultados permitirán fortalecer las áreas donde se observó menor grado de satisfacción, e implementar estrategias para facilitar el aprendizaje de los temas identificados como de mayor dificultad.



# **REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA**

**6 Y 7 DE OCTUBRE DE 2016 Hospital Universitario Integrado  
Facultad de Ciencias Médicas UNLP-La Plata, Argentina**

# REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

## ORGANIGRAMA

### Miércoles 5 de Octubre:

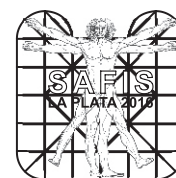
8:00	Inscripción
9:00-9:30	Acto inaugural
9:30-11:00	Talleres
11:00-11:30	Coffee Break
11:30-12:30	Conferencia 1
12:30-14:30	Posters /lunch box
14:30-16:00	Talleres
16:00-16:30	Coffee Break
16:30-18:00	Mesa redonda
18:00-19:00	Conferencia 2
19:00	Acto de cierre / premios

### Jueves 6 de Octubre

8:00	Inscripción
9:00-9:15	Bienvenida
9:15-11:15	Simposio 1
11:15-11:45	Coffee Break
11:45-12:45	Conferencia 1
12:45-14:15	Posters /lunch box
14:15-15:30	Premio Camilión de Hurtado
15:30-16:00	Coffee Break
16:00-18:00	Simposio 2
18:00	Asamblea

### Viernes 7 de Octubre

8:00	Inscripción
9:00-11:00	Simposio 3
11:00-11:30	Coffee Break
11:30-12:30	Conferencia 2
12:30-14:00	Posters /lunch box
14:00-15:30	Premio SAFIS
15:30-16:00	Coffee Break
16:00-18:00	Simposio 4
18:00	Acto de cierre / premios



## PROGRAMA

### Jueves 6 de Octubre:

**8:00**

---

**Inscripción** (Hall Central del Hospital Universitario Integrado)

**8:00-9:15**

---

**Colocación de Posters**

**9:00-9:15**

---

**Palabras de Bienvenida**

**9:15-11:15**

---

**Simposio 1: “El corazón como fuente y blanco de procesos inflamatorios”.**

**Coordinadores:** Margarita Salas-Analía Tomat.

**Silvina Lo Presti.** Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET y Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

*Nuevas estrategias terapéuticas para contrarrestar la evolución hacia la cardiomiopatía chagásica.*

**Germán González.** Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

*Fibrosis e inflamación cardíaca en hipertensión. Rol de la Galectina-3.*

**Martín Vila Petroff.** Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.

*Fisiopatología cardíaca durante el shock séptico.*

**Emiliano Medei.** Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

*Arritmias cardíacas inducidas por señalización de receptores Toll. Papel de las corrientes transitorias de potasio (Ito).*

**11:15-11:45**

---

**Intervalo-Café**

**11:45-12:45**

---

**Conferencia Inaugural “Dr. Horacio E. Cingolani”**

**Coordinador:** Néstor Gustavo Pérez.

**Dra. Alicia Mattiazzi.** Centro de Investigaciones Cardiovasculares “Dr. Horacio E. Cingolani”, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.  
*Secuestro y pérdida de calcio por el retículo sarcoplásmico cardíaco; una cuestión de vida y muerte.*

**12:45-14:15**

---

**Sesión de Posters 1 y almuerzo.**

**14:15-15:30**

---

**Simposio de Jóvenes Investigadores en Fisiología Cardiovascular, Premio Camilión de Hurtado.**

**Coordinador:** María Celeste Villa-Abrille

**Jurados:** Verónica Milesi, Claudia Capurro y Germán González.

**1. CS Giménez<sup>1</sup>; P Locatelli<sup>1</sup>; R Dewey<sup>2</sup>; F Montini Ballarin<sup>3</sup>; G Abraham<sup>3</sup>; A Orlowski<sup>4</sup>; A De Lorenzi<sup>5</sup>; MR Bauzá<sup>1</sup>; A Neira Sepúlveda<sup>5</sup>; A Irala<sup>5</sup>; M Embon<sup>5</sup>; L Cuniberti<sup>1</sup>; FD Olea<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>IMETTYB-Universidad Favaloro-CONICET, <sup>2</sup>IIB-INTECH-UNSAM-CONICET, <sup>3</sup>INTEMA-UNMDP-CONICET, <sup>4</sup>CIC-UNLP-CONICET, <sup>5</sup>Hospital Universitario Fundación Favaloro, Argentina.

*Láminas de polilactato sembradas con mioblastos diafragmáticos que sobreexpresan conexina 43. Sus efectos cardioprotectores en un modelo ovino de infarto agudo de miocardio. Resultados preliminares.*

**2. G Mazzocchi<sup>1</sup>, CA Valverde<sup>1\*</sup>, JI. Felice<sup>1</sup>, J Palomeque<sup>1</sup>, L Sommese, E Lascano<sup>2</sup>, J Negroni<sup>2</sup>, A Mattiazzi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares “Dr. Horacio E. Cingolani”, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, Conicet La Plata y <sup>2</sup>Universidad Favaloro, Buenos Aires.

*Restitución de la liberación de Ca<sup>2+</sup> por el retículo sarcoplasmático en el corazón intacto. Disección de los factores que la modifican.*

**3. CA Valverde<sup>1</sup>, MI Ragone<sup>2</sup>, M Di Carlo<sup>1</sup>, A Mattiazzi<sup>1</sup>, AE. Consolini<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares “Dr. Horacio E. Cingolani”, Facultad de Cs.Médicas,



# REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

## Jueves 6 de Octubre:

UNLP, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Cátedra de Farmacología, Departamento de Cs. Biológicas, Fac. Cs. Exactas, UNLP, La Plata, Argentina.

*El mayor daño miocárdico producido por aumento del secuestro de calcio en ratones con fosforilación del RyR2 dependiente de CaMKII, no es debido a un mayor gasto energético.*

**15:30-16:00**

---

Intervalo-Café

**16:00-18:00**

---

**Simposio 2: "Avances en el estudio de las redes de señalización celular".**

**Coordinadores:** Irene Ennis-Andrea Chisari.

**Ariel Escobar.** School of Engineering, University of California, Merced, EEUU (video-conferencia).

*Señalización local de calcio en el miocardio evaluada en órgano entero.*

**Claudia Gentili.** Departamento Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

*Efectos del análogo tumoral de la hormona paratiroidea (PTHrP) en células de cáncer de colon humano: participación de la vía de señalización de las MAPKs.*

**Alejandro Colman-Lerner.** Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias – IFIBYNE.

*Sistemas de transducción de señales independientes del equilibrio ligando-receptor.*

**Daniel Calvo.** Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI) "Dr. Héctor N. Torres", (CONICET), Argentina.

*Efectos del óxido nítrico (NO) sobre la señalización GABAérgica de neuronas piramidales del hipocampo.*

**18:00**

---

**Asamblea de la Sociedad Argentina de Fisiología.**

## Viernes 7 de Octubre:

**8:00**

---

**Inscripción** (Hall Central del Hospital Universitario Integrado)

**8:00-9:00**

---

**Colocación de Posters**

**9:00-11:00**

---

**Simposio 3: "Alteraciones de la expresión génica como estrategia terapéutica"**

**Coordinadores:** Alejandro Orlowski-Alberto Crottogini.

**Patricio Morgan.** Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Horacio E. Cingolani", Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.

*Tratamiento de la hipertrofia cardíaca mediante ARNs de interferencia administrados con vectores virales.*

**Ricardo Dewey.** Laboratorio de Terapia Génica y Células Madre, IIB-INTECH (CONICET-UNSAM).

*Terapia Génica basada en la utilización de células madre.*

**Paola Locatelli.** Instituto de Medicina Traslacional, Trasplante y Bioingeniería (IMeTTyB-CONICET-Univ. Favaloro).

*Modificación genética de células mesenquimales para la regeneración cardíaca.*

**Martín Abba.** Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (CINIBA), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP

*Estudio de perfiles de expresión génica en la progresión del cáncer de mama.*

**11:00-11:30**

---

Intervalo-Café

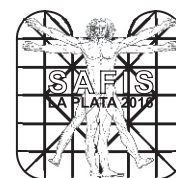
**11:30-12:30**

---

**Conferencia 2 (Video-Conferencia):**

**Coordinador:** María Cecilia Larocca.

**Dr. Sergio Gradilone.** The Hormel Institute. University of Minnesota, EEUU.



“The Primary Cilium as a Therapeutic Target in Carcinogenesis” (El cilio primario como diana terapéutica en la carcinogénesis).

**12:30-14:00**

---

**Sesión de Posters 2 y almuerzo**

**14:00-15:30**

---

**Simposio de Jóvenes Investigadores en Fisiología, Premio SAFIS.**

**Coordinador:** María Laura Ruíz

**Jurados:** Cristián Favre, Alberto Crottogini, Pablo Schwarzbau

**1. A Asuaje<sup>1</sup>, P Smaldini<sup>1</sup>, A Orlowski<sup>2</sup>, P Martín<sup>1</sup>, N Enrique<sup>1</sup>, L Díaz Zegarra<sup>1</sup>, C González León<sup>3</sup>, G Docena<sup>1</sup>, V Milesi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>IIFP – Conicet La Plata, <sup>2</sup>CIC – Conicet La Plata, <sup>3</sup>CINV - Universidad de Valparaíso. Chile

*El Canal de Protones Voltaje Operado (Hv1) como estructura relevante para la viabilidad de las células T Jurkat. Disrupción de la Homeostasis ácido base e inducción de apoptosis.*

**2. A Pisera Fuster, R Bernabeu.**

IFIBIO-UBA-CONICET

*Efectos de la exposición previa a nicotina sobre las propiedades reforzantes de la nicotina.*

**3. A Pizzoni, M López González, G Di Giusto, V Rivarola, CI Capurro, P Ford.**

Laboratorio de Biomembranas, IFIBIO Houssay (UBA-CONICET)

*Rol de AQP2 y TRPV4 en la modulación de la entrada de Ca<sup>2+</sup> inducida por el vaciamiento de depósitos intracelulares de Ca<sup>2+</sup>*

**4. MP Medrano, MP Faillace.**

IFIBIO-Houssay, FMED (UBA) – CONICET.

*Rol del receptor purinérgico P2X7 en la regulación de la proliferación y diferenciación celular en la retina del zebrafish adulto.*

**15:30-16:00**

---

**Intervalo-Café**

**16:00-18:00**

---

**Simposio 4: “Nuevos conceptos acerca de la fisiopatología de los ritmos circadianos”**

**Coordinadores:** Gisela Di Giusto-Alejandro Aiello.

**Daniel E. Vigo.** Instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED), Universidad Católica Argentina (UCA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). *Estudios cronobiológicos en situaciones extremas de aislamiento y confinamiento.*

**Natalia Paladino.** Laboratorio de Cronobiología. Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional De Quilmes -[UNQ] *Desincronización circadiana crónica en un modelo de tumorigénesis y en la regulación del peso corporal.*

**Juan José Chiesa.** Laboratorio de Cronobiología. Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional De Quilmes -[UNQ] *Sincronización lumínica del reloj circadiano en los mamíferos*

**María Fernanda Ceriani.** Fundación Instituto Leloir, Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Buenos Aires-CONICET, Buenos Aires. *Neuronas reloj y medio-ambiente: Qué podemos aprender de Drosophila?*

**18:00**

---

**Acto de cierre, entrega de premios**

**(Los Simposios y Conferencias se realizarán en Auditorio del Hospital Universitario Integrado)**

# REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

## CONFERENCIAS

### **Secuestro y pérdida de calcio por el retículo sarcoplásmico cardíaco; una cuestión de vida y muerte**

Alicia Mattiazzi

*Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Horacio Cingolani", Facultad de Medicina-CONICET La Plata, Argentina*

La función de la célula miocárdica depende del movimiento sincronizado de calcio (Ca) entre el citosol y el espacio extracelular así como también entre el citosol y el retículo sarcoplásmico (RS). Estos movimientos determinan el ritmo cardíaco y regulan lo que se conoce como acoplamiento éxito contráctil (AEC), - es decir la serie de eventos que comenzando con la despolarización de la membrana en la superficie celular, terminan a nivel de las miofibrillas, en la profundidad de la célula, con la contracción del miocito-. El manejo del Ca involucra una serie de proteínas y transportadores, tales como los canales de Ca tipo L, (LTCC), el intercambiador Na-Ca en el sarcolema, la Ca-ATPasa 2a (SERCA2a), la fosfolamban (PLN),- proteína que en su estado desfosforilado inhibe la actividad de la SERCA2a- y los receptores de rianodina (RyR2), en el RS. La entrada de Ca al citosol a través de los LTCCs activa la liberación de Ca del RS a través de los RyR2 e inicia la contracción, en tanto que la SERCA2a y la PLN, tienen el rol clave de secuestrar el Ca dentro del RS y producir la relajación.

Las anomalías en el manejo de Ca constituyen el sello característico de muchas patologías cardíacas, tales como la insuficiencia cardíaca y las arritmias ventriculares. En tanto que el rol de las alteraciones del RyR2 en la producción de arritmias está bien establecido, el rol del secuestro de Ca en diferentes patologías, incluidas las arritmias, es menos claro y los resultados son controvertidos. Esto es importante, ya que se demostró que la sobreexpresión de la SERCA2a y el consecuente aumento del secuestro de Ca por el RS, mejora la función cardíaca en muchos modelos animales de insuficiencia cardíaca que cursan clásicamente con una disminución en la expresión de esta proteína. Aunque los ensayos clínicos realizados con sobreexpresión de SERCA en la IC no han dado hasta el presente los resultados esperados, esto ha sido atribuido más a fallas de procedimiento (por ejemplo el tipo de vectores usados) que a la potencialidad del tratamiento mismo. Si el aumento en la expresión de la SERCA mejora la contractilidad miocárdica en la IC, resulta importante conocer si

dicho aumento, que produce necesariamente un incremento en el secuestro de Ca por el RS, mejora también o por el contrario exacerba, las arritmias que acompañan a la IC, que se asocian a un aumento de la pérdida de Ca por el RS y que se constituyen en muchos casos en causa de muerte.

Hemos evaluado en nuestro laboratorio el efecto del aumento del secuestro de Ca sobre las arritmias producidas por aumento en la pérdida de Ca por el RS en modelos de animales transgénicos. Se usaron ratones con seudofosforilación constitutiva en el sitio Ser2814 del RyR2 (S2814D) que debido a dicha fosforilación exhiben un aumento en la probabilidad de apertura de los RyR2 y por lo tanto una pérdida de Ca en diástole que predispone a arritmias; ratones con ablación de PLN y por lo tanto con aumento del secuestro de Ca por desinhibición de SERCA2a y la combinación de ambos, ratones a los que llamamos SDKO. Nuestra hipótesis fue que el aumento del secuestro de Ca es capaz de preservar de las arritmias inducidas por estrés y de las arritmias y daño miocárdico (necrosis, apoptosis) producido por isquemia/reperfusión (I/R). La ablación de PLN fue capaz de prevenir las arritmias, tanto por estrés como de reperfusión producidas por aumento de la pérdida de Ca por los RyR2. En cambio y contrariamente a nuestra hipótesis, no previno sino que exacerbó el infarto, con respecto a los corazones S2814D y aun los PLNKO. Los mecanismos de esta aparente paradoja también fueron estudiados. El aumento del secuestro de Ca por el RS por ablación de PLN transforma las ondas de Ca arritmogénicas en miniondas, que son eventos espontáneos no propagables. Este mecanismo resulta ineficiente para prevenir el aumento de Ca mitocondrial y el consiguiente aumento del daño miocárdico, posiblemente debido a la estrecha relación RS-mitocondria.

Nuestros resultados demuestran que el aumento del secuestro de Ca por ablación de PLN puede prevenir las arritmias originadas por pérdida de Ca por el RS. En cambio, no puede prevenir el daño miocardio al que son más propensos los corazones con alteración de los RyR2, por ejemplo cuando son sometidos a I/R. Los resultados indican además que el aumento del secuestro de Ca a través de la sobreexpresión de SERCA2a, podría ser utilizado en la IC como una herramienta para aumentar la contractilidad, sin el riesgo de producir arritmias. Por el contrario, las prevendría.



## **El cilio primario como blanco terapéutico en la carcinogénesis**

Sergio A. Gradilone, PhD

Section Leader "Cancer Cell Biology and Translational Research". The Hormel Institute. University of Minnesota. Austin, MN. USA

Los cilios primarios son organelos multisensores que se proyectan hacia el exterior celular en forma de antena, expresándose en la mayoría de las células epiteliales de diferentes órganos como pulmones, oviductos, glándulas mamarias, próstata, riñones, páncreas, e hígado. En función de la estructura de los microtúbulos que conforman sus axonemas o esqueletos ciliares, se pueden clasificar como cilios primarios (9+0) o cilios móviles (9+2). Las células de los epitelios que recubren las vías aéreas y el tracto reproductivo pueden presentar un gran número de cilios móviles; mientras que solo se expresa un cilio primario por célula en el resto de los tipos celulares. Estos últimos, funcionan como multisensores, modificando la fisiología celular mediante la detección de diversos estímulos externos, y su transducción hacia el interior celular. Los colangiocitos, las células epiteliales que conforman el árbol biliar hepático, normalmente contienen cilios primarios. La interacción de estos organelos con distintos componentes de la bilis regula una variedad de procesos celulares, incluyendo la proliferación celular y la secreción de solutos hacia la bilis. Estas estructuras celulares se consideraban vestigios evolutivos carentes de función fisiológica, pero durante los últimos 20 años se observó que mutaciones en genes involucrados en su ensamblado o en sus funciones sensoras, son responsables de diversas enfermedades humanas, ahora conocidas como ciliopatías. El estudio más profundo de los cilios determinó la importancia crucial de este organelo para el funcionamiento normal de las células. Por lo tanto, es esencial que tanto la estructura como la función ciliar se regulen y conserven adecuadamente. La disminución en la expresión o la pérdida de los cilios, se ha descrito en diversos tumores, incluyendo el cáncer de las vías biliares o colangiocarcinoma (CCA), sugiriendo que esta pérdida es un fenómeno común en la transformación neoplásica. El CCA es un tumor derivado de los colangiocitos y se puede clasificar en intra- o extra-hepático. Este tipo de tumor se diagnostica usualmente demasiado tarde, lo que lo transforma en una enfermedad letal con opciones terapéuticas muy limitadas. Por lo tanto es

imprescindible identificar nuevas dianas que conduzcan a estrategias terapéuticas más efectivas. El rol de los cilios en la tumorigenesis está muy poco estudiado. Los mecanismos que llevan a la pérdida ciliar en tumores, así como las consecuencias de la dicha pérdida, permanecen sin ser dilucidados. En base a nuestros estudios, proponemos que la desregulación de microARNs (miARNs) en las células de CCA induce la sobreexpresión de la proteína HDAC6 (histona deacetilasa 6) y la subsiguiente pérdida del cilio. HDAC6 es una enzima citoplasmática, cuyo principal sustrato es la  $\alpha$ -tubulina. La base estructural del cilio, el axonema, está conformado por microtúbulos estables cuya tubulina se encuentra acetilada. La desacetilación mediante HDAC6, desestabiliza el axonema y promueve la reabsorción de la cilia primaria. La pérdida de esta estructura induce la activación de las vías MAPK y Hedgehog y reprime la expresión de p53, contribuyendo así a la progresión tumoral. Para evaluar el efecto de la restauración del cilio en células tumorales, usamos HDAC6 como blanco, tanto por medio de técnicas de interferencia del ARN como por el uso de los inhibidores farmacológicos tubastatina-A y ACY-1215. Ambos procedimientos restauraron la expresión del cilio primario en líneas celulares de CCA, disminuyendo la proliferación y el crecimiento independiente de anclaje. Por otro lado, la disminución de la expresión de HDAC6 mediante la restauración de miARNs específicos en células tumorales mostró resultados similares, es decir la recuperación de la expresión ciliar y disminución del fenotipo maligno. Finalmente, el uso de tubastatina-A para inhibir HDAC6 produjo también una notable disminución del crecimiento tumoral en un modelo animal de CCA. En resumen, proponemos que los cilios normalmente detectan señales en la bilis que funcionan como un mecanismo supresor de tumores. Nuestros estudios muestran que la restauración de la expresión ciliar puede funcionar como una estrategia anti tumoral, clarifican los mecanismos por los cuales las células tumorales eliminan los cilios, y también identifican múltiples moléculas que pueden ser utilizadas como dianas terapéuticas.

## SIMPOSIO 1

### El corazón como fuente y blanco de procesos inflamatorios

#### **Nuevas estrategias terapéuticas para contrarrestar la evolución hacia la cardiomiopatía chagásica.**

Silvina Lo Presti

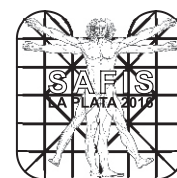
*Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET y Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.*

La enfermedad de Chagas es causa frecuente de cardiomiopatía en gran parte de Latinoamérica, donde *Trypanosoma cruzi* sigue representando una amenaza para la salud de más de 30 millones de personas. Los mecanismos por los cuales se originan las lesiones durante el curso de la infección continúan siendo objeto de intenso debate. Existe un consenso creciente de que la persistencia del parásito en el huésped, junto con una respuesta inmune desequilibrada, conduce a una respuesta inflamatoria sostenida que subyace a las lesiones características de la etapa crónica. El fármaco más utilizado para el tratamiento de esta enfermedad es benznidazol, que si bien tiene efecto parasiticida, posee efectos secundarios indeseables, existen poblaciones del parásito resistentes y tiene una eficacia variable en la fase crónica de la enfermedad, que es la presentación clínica predominante. Para el desarrollo de nuevos fármacos, se ha puesto énfasis en enzimas que muestran diferencias con respecto a las enzimas presentes en mamíferos o mejor aún que estén ausentes en estos últimos. Entre los fármacos que se encuentran bajo estudio, se pueden nombrar los derivados del triazol (como posaconazol y revuconazol) que inhiben de la biosíntesis de ergosterol, inhibidores de la escualeno sintasa, inhibidores de la cruzipaina y otros compuestos que han sido propuestos como candidatos para el tratamiento de esta enfermedad. Todos ellos logran su actividad anti-*T. cruzi* modificando/inhibiendo diferentes vías metabólicas esenciales para el parásito.

Dentro de las enzimas identificadas como posibles blancos para la quimioterapia, se encuentra la tripanotona reductasa, encargada de mantener un ambiente intracelular reductor en tripanoso-matideos. Se han descrito numerosos compuestos que muestran inhibición selectiva de esta enzima, entre ellos, estructuras tricíclicas como las fenotiazinas y compuestos relacionados. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto de tioridazina y de clomipramina sobre *T. cruzi* tanto in vitro como in vivo. Se ha encontrado que clomipramina, antidepressivo tricíclico de uso común en psiquiatría, inhibe la motilidad y produce la muerte de tripomastigotes y epimastigotes de *T. cruzi* in vitro. Estudios realizados en modelos experimentales

infectados con diferentes cepas/aislamientos de *T. cruzi* y tratados con clomipramina en distintos momentos de la infección, demostraron que esta droga modifica la evolución de la infección, mejorando en todos los casos, la supervivencia de los animales tratados. Estos resultados llevaron a plantear su uso en combinación con benznidazol, debido a que la administración simultánea de dos o más fármacos con diferentes mecanismos de acción, con diferentes especificidades en relación a las poblaciones de parásitos y con menos efectos secundarios, probablemente pueda optimizar el tratamiento. Se ha encontrado que clomipramina asociada a una menor dosis de benznidazol durante la etapa aguda de la infección experimental redujo la mortalidad y la parasitemia, demostrando tener menos efectos adversos que la dosis completa de benznidazol. El tratamiento con la combinación de benznidazol a un cuarto de su dosis habitual más clomipramina, durante la etapa crónica de la infección, presentó resultados similares a benznidazol a su dosis habitual en la mayoría de los parámetros analizados (electrocardiografía, histopatología y presencia del parásito en los diferentes tejidos del huésped).

Asimismo, se ha encontrado mediante estudios in vitro, que tioridazina es una fenotiazina con un efecto tripanocida directo, provocando disrupción de la mitocondria y del kinetoplasto en tripomastigotes y condensación de los orgánulos celulares cerca de la membrana plasmática en epimastigotes. El tratamiento con tioridazina, tanto en la etapa aguda como en la etapa crónica de la infección experimental, disminuyó las alteraciones electrocardiográficas e histopatológicas y aumentó la supervivencia con respecto a los ratones no tratados, previniendo la instalación de la cardiopatía. La respuesta al tratamiento fue diferente en función de la cepa/aislamiento de *T. cruzi* infectante. Se observaron cambios en las poblaciones del parásito presentes en circulación o en los tejidos luego de los tratamientos, lo que sugeriría una susceptibilidad diferencial de las mismas. La variabilidad genética del parásito por lo tanto, y su distribución diferencial en los diferentes tejidos del hospedador, pueden jugar un rol fundamental a ser tenido en cuenta en los esquemas de tratamiento. Estos nuevos fármacos, con diferente mecanismo de acción y utilizados en combinación, han mostrado resultados promisorios para el tratamiento de la patología. Estudios más profundos probablemente permitan encontrar las dosis y momentos más efectivos para lograr los mayores beneficios.



### **Fibrosis e inflamación cardíaca en hipertensión: rol de la galectina-3**

Dr. Germán González

*Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Universidad de Buenos Aires, Argentina.*

El incremento crónico de la presión arterial conlleva al desarrollo de cardiopatía hipertensiva (CPH) e insuficiencia cardíaca (IC). Durante el progreso de CPH el miocardio desarrolla una serie de cambios morfológicos que se manifiestan como hipertrofia, inflamación y fibrosis. Estos cambios se encuentran estrechamente vinculados a vías de señalización intra y extracelulares como así también a disfunción ventricular (Figura 1). La fibrosis suele ser mediada por factores como el TGF- $\beta$ , la IL-6 y la propia ANGII, mientras que la inflamación miocárdica es mediada por diferentes citocinas, el TNF- $\alpha$ , el NF- $\kappa$ B, entre los factores más estudiados(1;2). En los últimos años ha cobrado una importancia creciente la Galectina 3 (Gal-3) como un nuevo eslabón en la cadena de mecanismos que producen inflamación, fibrosis y disfunción miocárdica (Figura 1).

Gal-3 es una lectina de entre 27 y 35 kDa, ampliamente expresada en el sistema inmune. Esta lectina, ejerce su acción a través de su unión a  $\beta$ -galactosidasa, a proteínas de la MEC, carbohidratos (Ej. N- acetil lactosamina), como así también a proteínas no glicosiladas como CD II b y CD 18, que son receptores de superficie de macrófagos y receptores extracelulares (colágeno IV). Así, Gal-3 modula la interacción célula-célula y célula-MEC (3-7).

Macrófagos y fibroblastos son considerados la principal fuente de Gal-3, y ésta ejerce funciones fisiológicas tales como la regulación del crecimiento, diferenciación, apoptosis y división celular; como así también funciones patológicas dentro de las cuales ejerce su rol en el crecimiento tumoral, inflamación, fibrosis y reparación tisular.

En el corazón y bajo condiciones fisiológicas, Gal-3 se expresa en muy baja cantidad. Sin embargo, se incrementa significativamente bajo distintas condiciones patológicas (4;8).

Gal-3 comienza a adquirir relevancia en la patología cardiovascular cuando se observó que los niveles plasmáticos de Gal-3 se incrementan en pacientes con IC y fueron asociados a mayor riesgo de mortalidad. Esto llevó a que muchos propusieran a la Gal-3 como un marcador de pronóstico de insuficiencia cardíaca, estando incluso por encima de BNP (9).

En hipertensión arterial, uno de los primeros estudios que vinculó Gal-3 con el daño cardiovascular, fue el de

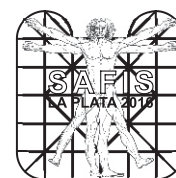
Sharma y col (8). Estos autores observaron que ratas REN 2 que desarrollan hipertensión arterial e IC, incrementaban la expresión miocárdica de Gal-3 en forma progresiva al mismo tiempo que progresaba la descompensación de la función ventricular. En este mismo estudio, también se mostró que Gal-3 se incrementaba en biopsias cardíacas de pacientes con estenosis aórtica con disminución de la fracción de eyección.

En un modelo de hipertensión inducido por infusión continua de Angiotensina II, el mismo grupo también evidenció el incremento de los niveles miocárdicos de Gal-3 que se co-localiza con sitios de inflamación y fibrosis. La administración concomitante del tetrapéptido Ac-SDKP, que tiene efecto antifibrótico y antiinflamatorio previno la expresión de Gal-3, sugiriendo que la inflamación y fibrosis miocárdica en hipertensión, podría ser mediados por la Gal-3 (7).

Para confirmar esta hipótesis, Liu y col (4) infundieron Gal-3 en el pericardio de ratas por 3 semanas. Esta infusión, incrementó el infiltrado de mastocitos y la fibrosis miocárdica, y redujo la fracción de eyección. En estos experimentos la disfunción ventricular, la fibrosis y el infiltrado inflamatorio se previnieron con Ac-SDKP, sugiriendo que Gal-3 sería un factor fundamental para regular la inflamación y la fibrosis cardíaca que conlleva a la disfunción miocárdica.

En un modelo experimental de infarto de miocardio mostramos que el déficit genético de Gal-3 modifica la evolución del proceso reparativo presentando un menor infiltrado de macrófagos y menos fibrosis a los 7 días, sugiriendo que la Gal-3 cumple su rol esencial en el proceso reparativo (10).

Las células inflamatorias que infiltran el miocardio en diferentes patologías cardíacas expresan Gal-3, induciendo la proliferación de fibroblastos, la producción de ciclina 1 y colágeno por parte de los fibroblastos (5). En pacientes con IC y modelos experimentales de hipertensión el incremento de Gal-3 fue propuesto como un marcador adverso (5,6). Recientemente Yu y col (8) mostraron que la deleción genética de Gal-3 o su inhibición farmacológica, reducen la hipertrofia miocárdica y la disfunción ventricular inducida por Ang II o constricción aórtica. En un estudio reciente de nuestro laboratorio mostramos que la deleción genética de Gal-3 en hipertensión inducida por Ang II, previene el infiltrado inflamatorio y la fibrosis miocárdica preservando la función sistólica. Asimismo mostramos que la falta de Gal-3 disminuyó la expresión cardíaca de ICAM1, así como los niveles plasmáticos de IL-6, sugiriendo que la evolución desfavorable de la CPH podría ser mediados al menos



en parte por Gal-3 (11). De esta manera, esta lectina podría ser un nuevo y atractivo agente terapéutico para prevenir la CPH y la evolución a insuficiencia cardíaca.

## Bibliografía

1. González GE, Rhaleb NE, Nakagawa P et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline reduces cardiac collagen cross-linking and inflammation in angiotensin II induced hypertensive rats. *Clin Sci (Lond)*. 2013.
2. González GE, Rhaleb NE, D'Ambrosio MA et al. Deletion of interleukin-6 prevents cardiac inflammation, fibrosis and dysfunction without affecting blood pressure in angiotensin II-high salt-induced hypertension. *J Hypertens*. 2015;33:144-152.
3. Liu FT. Regulatory roles of galectins in the immune response. *Int Arch Allergy Immunol*. 2005;136:385-400.
4. Liu YH, D'Ambrosio M, Liao T-D et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growth-regulatory lectin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296:H404-H412.
5. MacKinnon AC, Farnworth SL, Hodgkinson PS et al. Regulation of alternative macrophage activation by galectin-3. *J Immunol*. 2008;180:2650-2658.
6. Nachtigal M, Ghaffar A, Mayer EP. Galectin-3 gene inactivation reduces atherosclerotic lesions and adventitial inflammation in ApoE-deficient mice. *Am J Pathol*. 2008;172:247-255.
7. Sharma U, Rhaleb N-E, Pokharel S et al. Novel anti-inflammatory mechanisms of N-Acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro in hypertension-induced target organ damage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H1226-H1232.
8. Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ et al. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*. 2004;110:3121-3128.
9. de Boer RA, Lok DJ, Jaarsma T et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med*. 2011;43:60-68.
10. González GE, Cassaglia P, Noli Truant S, Fernández

MM, Wilensky L, Volberg V, Malchiodi EL, Morales C, Gelpi RJ. Galectin-3 is essential for early wound healing and ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Int J Cardiol*. 2014;176:1423-1425.

11. González GE, Rhaleb NE, D'Ambrosio MA, Nakagawa P, Liao TD, Peterson EL, Leung P, Dai X, Janic B, Liu YH, Yang XP, Carretero OA. Cardiac-deleterious role of galectin-3 in chronic angiotensin II-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016;311:H1287-H1296.

## Fisiopatología cardíaca durante el shock séptico.

Dr. Martín Vila Petroff,  
*Centro de Investigaciones Cardiovasculares Dr. Horacio E. Cingolani.*

Sepsis, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica a la infección severa, es la principal causa de muerte de los pacientes en unidades de terapia intensiva. La sepsis severa cursa con disfunción cardíaca y estudios clínicos muestran que la mortalidad se duplica en pacientes sépticos que presentan alteraciones de la función cardíaca. A pesar de su importancia en la evolución de la enfermedad, los mecanismos que subyacen a la disfunción contráctil asociada con sepsis no han sido completamente dilucidados. Estudios experimentales indican que la disfunción contráctil asociada con sepsis se debería a una disminución en la amplitud del transitorio de  $Ca^{2+}$  intracelular. Por otro lado, evidencias recientes indican que el contenido de  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplasmático (RS) está disminuido debido a la pérdida de  $Ca^{2+}$  a través de canales de calcio ubicados en el RS, los receptores de rianodina (RyR2).

En diferentes modelos experimentales de sepsis la disfunción contráctil también ha sido atribuida al efecto deletéreo causado por el aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Sin embargo, si estas ROS median la pérdida de  $Ca^{2+}$  por el RS no ha sido aún examinado.

Por otra parte, la proteína quinasa II dependiente de calcio y calmodulina (CaMKII) es una quinasa ubicua, canónicamente activada por  $Ca^{2+}$  que en el corazón, normalmente cumple una función fisiológica regulando el acoplamiento éxito-contráctil. Sin embargo, numerosos trabajos han destacado que la activación crónica de esta quinasa puede ser deletérea promoviendo, entre otras cosas, disfunción contráctil. Estos efectos deletéreos de CaMKII se han atribuido, al



menos en parte, a sus efectos sobre el RyR2.

Un importante hallazgo descrito recientemente es que las ROS pueden activar a CaMKII en ausencia de un aumento sostenido del Ca<sup>2+</sup> intracelular. En este contexto, el aumento de los niveles de las ROS que ocurren durante la sepsis podrían activar a CaMKII por oxidación. Esta activación modula a través de la fosforilación, varias proteínas involucradas en el manejo del Ca<sup>2+</sup> intracelular, incluyendo a los RyR2.

Estos antecedentes sugieren que el aumento de las ROS en sepsis podría activar a CaMKII resultando en la fosforilación de los RyR2 en su sitio específico Ser2814 aumentando así la pérdida de Ca<sup>2+</sup> del RS. Este aumento de la pérdida de Ca<sup>2+</sup> podría ser responsable de la disfunción contráctil asociada con sepsis.

En el presente estudio examinamos si la activación de CaMKII por oxidación aumenta la probabilidad de apertura de los RyR2 resultando en la pérdida de Ca<sup>2+</sup> del RS, contribuyendo así a la disfunción cardíaca asociada con sepsis.

Usando un modelo experimental de sepsis denominado CASP (peritonitis provocada por colocación de una cánula en el colon ascendente) y sus controles Sham, observamos que 24hs después de la cirugía CASP los ratones presentaban un significativo aumento en los niveles circulantes de citoquinas proinflamatorias, una reducción de la fracción de eyección (FE) y de la fracción de acortamiento (FA) medidas por ecocardiografía (FE% 54.76±0.67; FA% 27.53±0.50) comparadas con ratones Sham (FE% 73.57±0.20; FA% 46.75±0.38). Al nivel de celular, los cardiomiocitos CASP presentaban una reducción de acortamiento celular, de la amplitud del transitorio de Ca<sup>2+</sup> y del contenido de Ca<sup>2+</sup> del RS comparado con los cardiomiocitos Sham. Los corazones CASP presentaban un aumento significativo de la oxidación de CaMKII que se pudo prevenir pretratando los animales con el antioxidante Tempol. La inhibición farmacológica de CaMKII con 2.5µM KN93 previno la disminución del acortamiento celular, del transitorio de Ca<sup>2+</sup> y del contenido de Ca<sup>2+</sup> del RS observada en los miocitos CASP. La función contráctil también se encontró preservada en miocitos aislados de ratones transgénicos que expresan un péptido inhibidor de la CaMKII (AC3-I) sometidos a cirugía CASP. La disfunción contráctil asociada con sepsis también se previno en ratones mutantes que tiene el sitio de fosforilación del RyR2 específico de CaMKII mutado a alanina y por lo tanto no fosforilable. Más aun, ratones S2814A sometidos a cirugía CASP tenían preservada la FE y la FA (FE% 73.06±6.31; FA% 42.33±5.70) comparado con ratones S2814A Sham (FE% 71.60±4.02; FA% 39.63±3.23).

Los resultados indican que la oxidación y consecuente activación de CaMKII tiene un rol causal en la disfunción contráctil asociada con sepsis. Con la utilización de herramientas farmacológicas y manipulación genética a través de la utilización de ratones mutantes y transgénicos, demostramos que la activación de CaMKII modula al RyR2 a través de su fosforilación en el sitio Ser2814. Esta fosforilación del RyR2 induciría un aumento en su probabilidad de apertura y como consecuencia la pérdida de Ca<sup>2+</sup> del RS que conduce a la disminución del transitorio de Ca<sup>2+</sup> y a la disfunción contráctil observada en esta entidad patológica. Los resultados sugieren que los inhibidores de CaMKII podrían resultar en una nueva herramienta terapéutica para el tratamiento de la disfunción contráctil asociada con sepsis.



# SIMPOSIO DE JÓVENES INVESTIGADORES EN FISIOLÓGIA CARDIOVASCULAR

## Premio Camili3n de Hurtado

### L3minas de polilactato sembradas con mioblastos diafragm3ticos que sobreexpresan conexina 43. Sus efectos cardioprotectores en un modelo ovino de infarto agudo de miocardio. Resultados preliminares.

Gim3nez CS<sup>1</sup>; Locatelli P<sup>1</sup>; Dewey R<sup>2</sup>; Montini Ballarin F<sup>3</sup>; Abraham G<sup>3</sup>; Orłowski A<sup>4</sup>; De Lorenzi A<sup>5</sup>; Bauz3 MR<sup>1</sup>; Neira Sep3lveda A<sup>5</sup>; Irala A<sup>5</sup>; Embon M<sup>5</sup>; Cuniberti L<sup>1</sup>; Olea FD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>IMETTYB-Universidad Favaloro-CONICET, <sup>2</sup>IIB-INTECH-UNSAM-CONICET, <sup>3</sup>INTEMA-UNMDP-CONICET, <sup>4</sup>CIC-UNLP-CONICET, <sup>5</sup>HOSPITAL Universitario Fundaci3n Favaloro, ARGENTINA.

**Introducci3n:** Las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad del mundo, superando a las enfermedades infecciosas y oncol3gicas.

La enfermedad cardiovascular m3s frecuente y con mayor mortalidad es la cardiopat3a isqu3mica. Su complicaci3n m3s severa es el infarto agudo de miocardio (IAM), caracterizado por p3rdida de tejido contr3ctil y reemplazo por tejido fibr3tico. Con el tiempo, estos eventos conducen al desarrollo de insuficiencia card3aca cuyo tiempo medio de sobrevida es de 4 a5os. Con el objeto de restaurar la funcionalidad de corazones que han sufrido infarto y disminuir la necesidad de trasplantes, la cardiomioplast3a (implante de c3lulas madre) se est3 investigando como una alternativa. Para este fin se han utilizado c3lulas madre de diferentes or3genes y potencialidades evolutivas, entre las que se encuentran los mioblastos del m3sculo esquel3tico, tambi3n conocidas como "c3lulas sat3lite" o "mioblastos". Se ha sugerido que el potencial de diferenciaci3n de los mioblastos podr3a variar seg3n su m3sculo de origen, siendo las caracter3sticas fisiol3gicas de 3ste uno de los factores m3s importantes a tener en cuenta. Dado que el diafragma se compone de fibras tipo I de gran resistencia al estr3s y alto umbral de agotamiento que le permite contraerse unas 20 veces/min durante toda la vida, los mioblastos diafragm3ticos (MDs) ser3an m3s adecuados que los de otros m3sculos esquel3ticos para terapias cardio-regenerativas.

De esta manera, nos propusimos aislar, cultivar y caracterizar MDs ovinos, transducirlos con el gen de conexina 43 (cx43) para promover la conexi3n entre c3lulas, y crecerlos sobre l3minas de polilactato (PLA) para la aplicaci3n posterior de estas l3minas sobre 3reas infartadas en un modelo ovino de IAM.

**M3todos:** Todo procedimiento se realiz3 de acuerdo a la Gu3a para el Uso y Cuidado de Animales de Laboratorio (NIH publication No. 85-23, revised 1996) y bajo aprobaci3n del Comit3 Institucional para el

Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL).

En ovejas Corriedale de 30-40 kg de peso se obtuvieron biopsias de diafragma de 1 a 2 cm<sup>2</sup> por minitoracotom3a derecha est3ril bajo anestesia general. Las muestras recolectadas fueron digeridas con colagenasa. Los MDs extra3dos se cultivaron sobre un feeder layer de macr3fagos aut3logos activados, y se caracterizaron con anticuerpos anti-desmina, a-actina sarcom3rica, SERCA-2-ATPasa, MyoD y miosina de cadena pesada para m3sculo esquel3tico (MHC) y por su capacidad de diferenciarse a miotubos.

Se desarroll3 un vector lentiviral portador del gen de cx43 y de la prote3na verde fluorescente bajo la regulaci3n de un promotor de citomegalovirus, con el cual se transdujeron MDs, previa medici3n por citometr3a de flujo de la eficiencia de transducci3n de diversas multiplicidades de infecci3n (MOI).

La expresi3n de cx43 fue corroborada por Western blot en MDs con la modificaci3n g3nica (MDcx43), y en miotubos obtenidos de su diferenciaci3n. Adem3s, se estudi3 viabilidad celular por absorbancia mediante kit comercial.

L3minas de PLA de aproximadamente 50  $\mu$ m de espesor fueron dise5adas y desarrolladas por electrospinning, t3cnica que permite alinear las fibras del biopol3mero y as3 promover el ordenamiento paralelo de los MDs al ser cultivados sobre las l3minas, lo cual, a su vez, aumenta el 3rea de contacto entre c3lulas, favoreciendo la comunicaci3n por cx43.

A continuaci3n, las ovejas previamente biopsiadas fueron reoperadas para provocar un IAM 3nteroapical por toracotom3a izquierda est3ril bajo anestesia general. L3minas cultivadas con MDcx43 aut3logos (grupo PLA-MDcx43; n=4) y l3minas no cultivadas (grupo PLA; n=4) fueron suturadas cubriendo el infarto y 1 cm del miocardio no infartado adyacente.

El tama5o de infarto inicial y final (3 y 45 d3as post-IAM, respectivamente) se midi3 por resonancia magn3tica nuclear (RMN) con realce tard3o (gadolinio), t3cnica que permite comparar los tama5os de infarto en forma apareada. Previo al IAM (d3a 0) y a los 3 y 45 d3as del mismo se midi3 la fracci3n de eyecci3n (FE%) del ventr3culo izquierdo (VI) por ecocardiograf3a bidimensional bajo sedaci3n leve.

**Resultados:** La eficiencia de transducci3n fue de 70,81% con un MOI=100. La viabilidad celular, expresada como % relativo a MD no transducidos, no se alter3 a causa de la manipulaci3n g3nica (MD sin transducir: 100,0  $\pm$  9,475%; n=6; MDcx43: 95,55  $\pm$  7,267%; n=6; p=NS; X  $\pm$  SD; test t).

El tama5o de infarto, expresado en ml de tejido infartado, disminuy3 en el grupo PLA-MDcx43 de 8,0  $\pm$



1,83 ml al día 3 a  $6,25 \pm 2,2$  ml al día 45 ( $p < 0,01$ ,  $X \pm SD$ , 2-way ANOVA-Bonferroni) pero no así en el grupo PLA ( $9,4 \pm 3,15$  ml al día 3 vs.  $8,67 \pm 3,79$  ml al día 45,  $p = NS$ ). La FE% disminuyó en el grupo PLA entre el día 0 y el día 3 ( $70,7 \pm 6,1\%$  vs.  $51,5 \pm 12,7\%$ ,  $p < 0,02$ ) pero no en el grupo PLA-MDcx43 ( $65,8 \pm 1,9\%$  vs.  $56,8 \pm 4,5\%$ ,  $p = NS$ ). Entre el día 3 y 45, ninguno de ambos grupos mostró cambios significativos en la FE% (PLA:  $56,7 \pm 13,7\%$ ; PLA-MDcx43:  $55,4 \pm 10,5\%$ ; ambos  $p = NS$  vs. sus respectivos valores a día 3 y a día 0).

**Conclusiones:** En ovejas con IAM experimental: 1) Los MD pueden ser aislados, cultivados y genéticamente modificados de manera eficiente sin alterar su viabilidad. 2) Las láminas de PLA cultivadas con MDcx43 implantadas sobre la superficie infartada y su zona adyacente reducen el tamaño de infarto. 3) El tratamiento preserva la función VI, protegiendo de la caída precoz de la FE% post-IAM, pero no supera significativamente el efecto logrado por el PLA sin células a los 45 días post-IAM. 4) Estos resultados preliminares deberán ser confirmados por experimentos realizados en un número mayor de animales.

### **Restitución de la liberación de $Ca^{2+}$ por el retículo sarcoplasmático en el corazón intacto. Disección de los factores que la modifican.**

Gabriela Mazzocchi\*, Alejandra Cely Ortiz\*, Carlos A Valverde\*, Juan I. Felice\*, Julieta Palomeque\*, Leandro Somnese, Elena Lascano#, Jorge Negroni#, Alicia Mattiazzi\*.

\*Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Horacio Cingolani", Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, Conicet La Plata y #Universidad Favaloro, Buenos Aires.

**Introducción:** Durante el acoplamiento éxito-contráctil se libera  $Ca^{2+}$  desde el retículo sarcoplasmático (RS) a través de los receptores de rianodina (RyR2), en respuesta a una entrada de  $Ca^{2+}$  por el sarcolema. Luego de la liberación, debe transcurrir un cierto tiempo, antes de que ocurra una segunda liberación de igual amplitud. Esta refractariedad de la liberación de  $Ca^{2+}$  se define como la recuperación tiempo-dependiente (restitución) de la liberación de  $Ca^{2+}$  (RLC)[1].

La velocidad de la RLC es un elemento importante en la determinación del potencial arritmogénico celular. Así, una recuperación de RLC más rápida que la normal ha sido asociada con algunas formas de taquicardia ventricular polimórfica catecolami-nérgica (CPVT)[2]. Si bien los mecanismos que determinan y regulan la RLC no están totalmente aclarados, éstos han sido

relacionados al contenido de  $Ca^{2+}$  del RS y/o la velocidad de secuestro de  $Ca^{2+}$  por el mismo, así como a la sensibilidad de los RyR2 al  $Ca^{2+}$ . Por ejemplo, se demostró que una mayor actividad de la SERCA aumenta la velocidad de RLC[3]. Además en ratones carentes de calsecuestrina, el buffer de  $Ca^{2+}$  principal dentro del RS, se aceleró la RLC, posiblemente por aumento del  $Ca^{2+}$  libre dentro del RS[4]. La mayoría de estos estudios se han realizado en miocitos aislados[2-4], por lo que una caracterización a nivel del corazón intacto podría ser de gran valor para la mejor interpretación de la dinámica del  $Ca^{2+}$  intracelular en el corazón intacto.

**Objetivos:** El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la RLC en el corazón intacto y diseccionar la importancia de la velocidad del secuestro de  $Ca^{2+}$  y del contenido de  $Ca^{2+}$  del RS en la regulación de la misma.

**Métodos:** Se realizaron experimentos en corazones de ratones controles (C57BL/6, WT), ratones con ablación de fosfolamban, proteína que cuando está presente inhibe el secuestro de  $Ca^{2+}$  por el RS (PLNKO), ratones con seudofosforilación constitutiva del RyR2 por CaMKII (S2814D), alteración que aumenta la pérdida de  $Ca^{2+}$  por el RS, y doble mutantes (SDKO), resultado de la cruce de ambos. Todos los animales fueron confirmados genotípicamente por PCR. Ninguna cepa presentó alteraciones macroscópicas o estructurales significativas y tuvieron una sobrevida similar. Se midió  $Ca^{2+}$  citosólico e intra RS en el corazón intacto, perfundido tipo Langendorff, con indicadores fluorescentes (Rhod-2 y Mag-Fluo-4, respectivamente), usando la técnica de microscopía de fluorescencia de campo local pulsado ya descrita [5,6]. Esta técnica permite medir  $Ca^{2+}$  intracelular en el epicardio del corazón entero, funcionando. En algunos experimentos se usaron miocitos aislados de los mismos ratones, en los que se midió  $Ca^{2+}$  intracelular con Fura-2/AM. Las curvas de RLC fueron generadas por la aplicación de un pulso extrasistólico adicional a distintos tiempos durante el intervalo diastólico regular. La recuperación fraccional de la liberación de  $Ca^{2+}$  fue calculada como la relación y anterior al pulso extrasistólico (Figura, A panel derecho). En los miocitos aislados el contenido de  $Ca^{2+}$  del RS fue determinado por un pulso de cafeína (10mM)[7]. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM y fueron evaluados por el test de t de Student para muestras independientes o ANOVA seguido del test pos-hoc de Tukey, para comparar diferencias entre grupos. Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado significativo.

**Resultados y Discusión:** La Figura A, panel de la



izquierda, muestra curvas de restitución típicas obtenidas en un corazón de ratón PLNKO y SDKO y los valores promedio de las constantes de tiempo de las curvas de restitución obtenidas en los diferentes experimentos en las 4 cepas (panel derecho). Curvas de restitución del PA no revelaron diferencias entre las distintas cepas. Con la finalidad de poder disecar si el mecanismo involucrado en la determinación de la RLC era el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS o la velocidad de secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$  por el RS, se compararon PLNKO con SDKO. Se observó que la velocidad de RLC (inversa de la constante de tiempo), es significativamente mayor en PLNKO con respecto a SDKO. La diferencia observada en RLC entre estas dos últimas cepas no puede estar dada por el aumento de la velocidad de secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$  por el RS, ya que la misma es similar en ambas cepas (Figura panel B). En cambio, el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS, estimado en miocitos aislados a través de pulsos de cafeína, es significativamente menor en los SDKO respecto a los PLNKO (Figura panel C). Los resultados sugieren que el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS (y no la velocidad de secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$ ) es una determinante principal de la RLC. No podemos descartar la importancia de la fosforilación CaMKII dependiente de los RyR2 en los SDKO en la determinación de la RLC. Se ha descrito que dicha fosforilación aumenta la sensibilidad del RyR2 al  $\text{Ca}^{2+}$  [8]. De ser así, la diferencia en la RLC observada entre SDKO y PLNKO, atribuida a mayor contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS del PLNKO, sería aún mayor. Un modelo matemático que reprodujo los resultados obtenidos, contribuyó a la interpretación de los mismos.

## Referencias

- [1]. DelPrincipe F et al., *Nat Cell Biol* 1999; 1:323–329.
- [2]. Gyorke S. *Heart Rhythm* 2009;6:123–129.
- [3]. Ramay HR et al. *Cardiovasc Res* 2011; 91:598-605.
- [4]. Knollmann BC et al., *J Clin Invest* 2006; 116:2510–20.
- [5]. Mejia-Alvarez R et al., *Pflugers Arch* 2003; 445: 747–758.
- [6]. Valverde CA et al., *Cardiovasc Res* 2010; 85: 671–680.
- [7]. Mazzocchi G et al., *J Physiol* 2016; 594:3005-3030.
- [8]. van Oort RJ et al., *Circulation* 2010; 122: 2669–2679.

## **El mayor daño miocárdico producido por aumento del secuestro de calcio en ratones con fosforilación del RyR2 dependiente de CaMKII, no es debido a un mayor gasto energético**

Carlos A. Valverde<sup>1</sup>, M. Inés Ragone<sup>2</sup>, Mariano Di Carlo<sup>1</sup>, Alicia Mattiazzi<sup>1</sup>, Alicia E. Consolini<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares “Dr. Horacio E. Cingolani”, Facultad de Cs. Médicas, UNLP, La Plata, Bs As, Argentina.

<sup>2</sup>Cátedra de Farmacología, Departamento de Cs. Biológicas, Fac. Cs. Exactas, UNLP, La Plata, Bs As, Argentina.

La pseudofosforilación constitutiva del residuo Ser2814 del canal de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) del retículo sarcoplasmático (receptor de rianodina, RyR2) predispone a los corazones de los ratones mutantes (S2814D) a un aumento en la propensión a arritmias y daño por isquemia y reperfusión (infarto). La cruce de los ratones S2814D con ratones (PLNKO) con eliminación genética de fosfolamban (PLN, proteína reguladora de la bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS) generó una nueva cepa de ratones, SDKO, con aumento de la pérdida de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS y con aumento en el secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$ . Cuando se sometieron los corazones de ratones de esta nueva cepa doble mutante a un protocolo de estrés para inducir la aparición de arritmias, se observó que el aumento en la retoma de  $\text{Ca}^{2+}$  fue suficiente para prevenir los eventos arrítmicos evaluados por electrocardiograma en ratones conscientes, respecto a ratones S2814D.

Sin embargo, la ablación de PLN combinada con la pseudofosforilación de los RyR2 en Ser2814 no fue capaz de prevenir, sino que además exacerbó el daño miocárdico (infarto), causado por isquemia y reperfusión (I/R, 45 min y 120 min, respectivamente), en los S2814D.

El mecanismo de estos efectos opuestos provocados por el aumento del secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$ , en ratones con pérdida crónica de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS, es decir beneficioso frente a la propensión a arritmias, pero perjudicial en el infarto, podría deberse a diferentes causas. Una de ellas es que la ablación de PLN en los ratones SDKO aumenta el gasto energético, haciéndolos más susceptibles frente al estrés de I/R; o por otra parte, la ablación de PLN en los SDKO exagera la pérdida de  $\text{Ca}^{2+}$  de los S2814D, hecho que a su vez puede exacerbar el daño mitocondrial y la muerte celular.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar si el consumo energético tiene un rol en los efectos contradictorios hallados.

Para ello se realizaron experimentos de I/R breve (15 minutos, con 30 minutos de reperfusión) en corazones (perfusión isovolúmica tipo Langendorff), de ratones S2814D, SDKO y PLNKO. La combinación de ambas mutaciones en los corazones SDKO exacerbó significativamente el daño miocárdico no sólo con respecto a los S2814D sino también respecto a los PLNKO. Se registró un tamaño de infarto, en porcentaje



del área de riesgo, de  $7,4 \pm 2,0$  (S2814D),  $18,9 \pm 2,2$  (PLNKO) y  $23,4 \pm 3,6$  (SDKO).

Simultáneamente, se registró la actividad de la enzima LDH en el efluente de perfusión durante los primeros minutos de reperfusión, y se obtuvieron resultados concordantes con los del tamaño de infarto:  $226,0 \pm 45,5$ ,  $246,5 \pm 30,5$  y  $399,1 \pm 55,0$  en UI/g, para S2814D, PLNKO y SDKO, respectivamente.

Posteriormente se evaluó el gasto energético de corazones en basal (perfundidos tipo Langendorff, con estimulación continua a 4 Hz) y frente al protocolo de isquemia y reperfusión en las tres cepas mutantes evaluadas.

Para ello, se midió el flujo de calor total (Ht) en un calorímetro de flujo a  $37^\circ\text{C}$ . El Ht en condiciones control fue mayor para los corazones de los ratones SDKO ( $38,8 \pm 4,6$  mW/g) respecto a los controles ( $27,1 \pm 3,5$ ). Esta diferencia puede deberse al ciclo fútil que presentan los corazones debido a la pérdida aumentada de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS simultánea con un aumento en la retoma de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS que consume ATP, y que por ende aumenta el calor generado. Al inicio de la reperfusión, se registró un aumento del calor generado en los corazones de ratones PLNKO respecto a los SDKO ( $46,5 \pm 10,4$  vs.  $29,2 \pm 3,0$  mW/g) que luego convergieron a valores similares hacia el final de la misma.

De los presentes resultados, concluimos que el incremento del daño miocárdico producido por la ablación de PLN en los SDKO no es debido a un mayor gasto energético, ya que los PLNKO con mayor gasto postisquémico (compatible con remoción de  $\text{Ca}^{2+}$ ) presentan un menor daño. El aumento del infarto en los SDKO podría atribuirse a la mayor pérdida de  $\text{Ca}^{2+}$  por el RyR2 (presumiblemente hacia la mitocondria), inducido por la doble condición de aumento del secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$  al RS y alteración en la actividad del RyR2 por pseudo-fosforilación por CaMKII.

## SIMPOSIO 2

### Avances en el estudio de las redes de señalización celular

#### Bases iónicas del potencial de acción epicárdico

Ariel L Escobar

School of Engineering, University of California, Merced.

El estudio de las corrientes iónicas que subyacen al desarrollo del potencial de acción en corazones perfundido nos brinda la oportunidad única para relacionar mecanismos moleculares con el desarrollo de problemas fisiopatológicos en el campo de la investigación cardiovascular. Con este fin hemos desarrollado la técnica de Patch Photolysis (LPP). LPP puede ayudarnos a comprender nuevos elementos de la función cardiovascular a nivel de órgano intacto durante la salud y la enfermedad. Esta nueva técnica permite medir corrientes iónicas transmembrana en corazones intactos. Específicamente, durante un potencial evocado, una conductancia de  $\text{Ca}^{2+}$  dependiente de potencial puede ser activada por la fotodegradación de nifedipina, un bloqueador de canales de  $\text{Ca}^{2+}$ . Las corrientes iónicas así medidas durante el curso temporal de un potencial de acción presentan una fase temprana rápida y una fase tardía lenta. La componente temprana está mediada por un influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L. La componente tardía ha podido ser identificada como una corriente de entrada de  $\text{Na}^+$  transportada por el intercambiador  $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$  (NCX). Esta corriente tardía es activada por la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el retículo sarcoplasmático. Hemos podido determinar que la corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L contribuye a la fase 1 del potencial de acción mientras que la fase 2 es responsable de mantener la fase 2. Finalmente, LPP reveló que el influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L termina debido a una desactivación del canal dependiente del potencial y no por una inactivación dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ .

#### Efectos del análogo tumoral de la hormona paratiroidea (PTHrP) en células de cáncer de colon humano: participación de la vía de señalización de las MAPKs.

Dra. Claudia Gentili

Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia. INBIOSUR (UNS-CONICET)

El péptido relacionado a la hormona paratiroidea (PTHrP) se produce normalmente en muchos tejidos y actúa de manera endócrina, paracrina, autocrina e inclusive intracrina, siendo su modo de acción paracrino el más frecuente [1]. Se ha demostrado que los genes que codifican para PTHrP y su receptor están expresados en el epitelio de las vellosidades intestinales sugiriendo que en intestino PTHrP ejercería un papel regulador local a través de una vía autocrina/

paracrina [2].

El cáncer colorrectal (CCR) está ubicado entre las primeras causas de mortalidad por enfermedad maligna en el mundo [3]. Las investigaciones de la última década describen a PTHrP como un factor bioactivo en la iniciación, el crecimiento y la invasión de varios carcinomas. En intestino se observó que su expresión se correlaciona con la gravedad y metástasis del carcinoma de colon [4].

Las MAP quinasa está formada por cuatro familias principales: las proteínas quinasa reguladas por señales extracelulares (Erks), las quinasa c-Jun N-terminal (JNKs), la familia de las quinasa p38 y Erk5/BMK1. Cada familia está involucrada en diferentes respuestas celulares. Se ha observado que la desregulación de la vía de Erk1/2 MAPK favorece la patogénesis y el progreso del CCR [5].

En las células tumorales intestinales Caco-2 demostramos que el tratamiento con PTHrP incrementa la proliferación celular. PTHrP induce la activación y la redistribución subcelular de las quinasa Erk 1/2 y p38 MAPK sin observar cambios en la fosforilación/activación de JNK 1/2 MAPK. Varias moléculas involucradas en la regulación de la proliferación celular tales como CREB, ATF1, c-myc y ciclina D1 son modulados en su activación y/o expresión proteica por PTHrP mediante las MAPKs. Utilizando inhibidores específicos se obtuvo evidencias de que la hormona incrementa la proliferación de estas células intestinales a través de las vías de señalización de las Erk1/2 y p38 MAPK [6]. La acción paracrina de PTHrP también favorece la progresión del ciclo celular modulando la expresión de ciertas proteínas reguladoras del ciclo celular a través de las vías de señalización de las MAPKs [7]. PTHrP además presenta un efecto protector frente a la inducción de apoptosis; este efecto anti-apoptótico de la hormona es también mediado por las MAPKs [8].

Los resultados recientemente obtenidos profundizan el conocimiento respecto a los efectos de PTHrP en las células Caco-2 ya que revelan que la hormona, mediante Erk 1/2, favorece además la iniciación del proceso que conduce al fenotipo agresivo de las células tumorales intestinales.

Finalmente, se observó que los efectos de PTHrP se reproducen en la línea HCT116 derivada de carcinoma de colon humano; la hormona también induce la proliferación de las células HCT116 y favorece la progresión del ciclo celular modulando la expresión de ciertas proteínas reguladoras del ciclo celular [7]. Los ensayos posteriores in vivo inyectando células HCT116 en ratones inmunodeficientes seguido de la administración de PTHrP revelaron que la hormona favorece la formación y el crecimiento del tumor



evidenciando en estos tumores un aumento de la expresión de ciertas moléculas que son claves en la progresión del CCR.

Estas investigaciones brindan información de la acción paracrina de PTHrP y los mecanismos moleculares que son modulados por esta hormona en células intestinales tumorales. Al elucidar las vías de señalización que regulan los procesos inducidos por PTHrP y que favorecerían el avance del CCR se podrían generar estrategias terapéuticas alternativas en el tratamiento del cáncer.

## Referencias

- [1] McCauley LK, Martin TJ. (2012) *J Bone Miner Res*, 27:1231.
- [2] Watson PH, Fraher LJ, Hendy GN, Chung UI, Kisiel M, Natale BV, Hodsman AB. (2000) *J Bone Miner Res*, 15:1033.
- [3] Curtin JC. (2013) *Expert Opin Drug Discov*, 8:1153
- [4] Nishihara M, Ito M, Tomioka T, Ohtsuru A, Taguchi T, Kanematsu T. (1999) *J Pathol*, 187:217.
- [5] Saif MW, Chu E. (2010) *Cancer J*, 16:196.
- [6] Martin MJ, Calvo N, de Boland AR, Gentili C. (2014) *J Cell Biochem*, 115:2133.
- [7] Calvo N, Martín MJ, de Boland AR, Gentili C. (2014) *Biochem Cell Biol*, 92:305.
- [8] Lezcano V, Gentili C, de Boland AR. (2013) *BBA Mol Cell Res*, 1833:2834.

## Procesamiento de información y robustez en rutas de transducción de señales.

Alejandro Colman-Lerner.

Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias-IFIBYNE.

Las células responden a cambios en su ambiente para poder sobrevivir y realizar sus funciones fisiológicas. Para esto, utilizan una variedad de mecanismos para transducir las señales extracelulares en respuestas intracelulares, que usualmente se activan con la unión de un ligando (la señal) a un receptor específico.

Nosotros estudiamos la ruta de transducción de señales activada por la feromona sexual en la levadura *S. cerevisiae*. Ésta es quizás la vía de respuesta más estudiada en eucariotas. Está constituida por componentes altamente conservados evolutivamente, tales como un GPCR (G-protein Coupled Receptor), Ste2, y una cascada de MAPK que se activa cuando el heterodímero G se disocia de G y recluta a la membrana a la proteína de andamiaje Ste5. Además, la proteína RGS (Regulator of G protein Signaling) Sst2 inactiva a G, estimulando su reasociación con G. De notar, Ste2 forma un complejo con Sst2 y sólo en el contexto de este complejo Sst2 puede inactivar a G.

La teoría de receptores clásica indica que la magnitud

de una respuesta depende de la cantidad de complejo ligando-receptor que se forme, lo que a su vez depende de la concentración de los mismos. Por lo tanto, cambios en la abundancia de los receptores deberían causar cambios en la respuesta, ya sea aumentando su amplitud o haciendo que se alcance la respuesta máxima a menores dosis de ligando. Sin embargo, en la vía de respuesta a feromona, la respuesta de las células no se altera al aumentar o disminuir la abundancia de su receptor, dependiendo sólo de la concentración de la feromona. Esto indica que la vía no responde a la abundancia absoluta de complejo feromona-receptor. Una idea interesante que permite explicar estas evidencias es que el sistema compute la fracción de receptor ocupado dado que, a una misma concentración de ligando, células con distinto número de receptores poseen la misma fracción de receptor ocupado. Para un mecanismo de este tipo tanto el receptor ocupado como el desocupado deberían tener un rol.

Aquí estudiamos el mecanismo que permite “medir fracción” de receptor ocupado. Primero demostramos experimentalmente que esta medición se origina a nivel de la activación de la proteína G, y no requiere componentes río abajo. Luego desarrollamos un modelo matemático de esta etapa de la vía y su análisis nos indicó que es el complejo Ste2-Sst2 el que “computa” la fracción entre receptor ocupado y desocupado. Entonces, para testear esta predicción, realizamos experimentos con cepas en las que controlamos externamente abundancia de receptores, en las que reemplazamos Sst2 por variantes de la proteína humana RGS4, a la que a su vez modificamos para puedan o no interactuar con el receptor. Nuestros resultados apoyan claramente la hipótesis de que la medición de fracción de receptor ocupado depende del complejo GPCR-RGS, validando el modelo. En eucariotas, muchas RGSs se unen directa o indirectamente a los GPCR que regulan, lo que sugiere que estos complejos con funciones opuestas (activar e inactivar a G) que “miden fracción” podrían ser ubicuos.

## Efectos del óxido nítrico sobre la señalización GABAérgica de neuronas piramidales del hipocampo

Daniel J. Calvo.

Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular. INGEBI-CONICET.

En el sistema nervioso central (SNC) la neuro transmisión inhibitoria rápida está mediada principalmente por el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) actuando sobre receptores ionotrópicos (canales de cloruro activables por GABA) denominados receptores de GABAA. La liberación de GABA en las terminales



sinápticas no solo desencadena la activación de los receptores sinápticos, también induce la activación de receptores extrasinápticos. Los receptores de GABA<sub>A</sub> sinápticos se localizan enfrentados a los sitios de liberación del neurotransmisor y median respuestas extremadamente rápidas (fásicas) que experimentan desensibilización en presencia de GABA. En tanto, los receptores de GABA<sub>A</sub> extrasinápticos se localizan alejados de estos sitios y median respuestas moderadamente rápidas (tónicas) que no desensibilizan. Por su parte, los receptores metabotrópicos de GABA<sub>B</sub>, de activación más lenta, no participan de manera directa en la neurotransmisión inhibitoria rápida.

Se ha observado que la neurotransmisión inhibitoria gabaérgica rápida es susceptible de ser modulada, mediante mecanismos pre- y post-sinápticos, por intermediarios metabólicos y varios compuestos involucrados en rutas de señalización celular. Particularmente, diversos agentes endógenos con propiedades reductoras o pro-oxidantes, que están normalmente presentes en neuronas y glía o son generados en estas células durante estados fisiológicos o en condiciones de stress oxidativo, producen acciones inhibitorias o potenciadoras sobre la actividad de diferentes subtipos de receptores de GABA<sub>A</sub> mediante interacciones moleculares que implican reacciones redox. Entre estos agentes se encuentran el ácido ascórbico, el glutatión, o especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, como por ej. peróxido de hidrógeno, radical superóxido, radical hidroxilo, óxido nítrico (NO), etc. En base a estos hallazgos se ha postulado la existencia de mecanismos de señalización redox que ejercerían un rol regulatorio homeostático sobre la función de los receptores sinápticos y extra-sinápticos de GABA<sub>A</sub> en diferentes áreas del SNC, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (Calvo y Beltrán González, 2016).

El NO participa en diversos fenómenos de plasticidad sináptica en el hipocampo mediante mecanismos pre- y postsinápticos que incluyen la modulación de la neurotransmisión GABAérgica. Está comprobado además que las sinapsis inhibitorias de las neuronas piramidales del hipocampo poseen la maquinaria molecular para el señalamiento retrógrado por NO. Sin embargo, los efectos del NO sobre la función de los receptores de GABA<sub>A</sub> sinápticos y extrasinápticos no han sido analizados de manera exhaustiva. Estudios in vitro de nuestro laboratorio indican que el NO modula las corrientes iónicas mediadas por receptores de GABA<sub>A</sub> en neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo. Estos resultados muestran que la supresión de la generación endógena de NO en estas células por L-NAME, un inhibidor de la sintetasa de NO,

produce un incremento significativo y reversible en la magnitud de las corrientes fásicas y tónicas GABAérgicas. Las corrientes de cloruro evocadas por GABA se han registrado en presencia y ausencia de L-NAME mediante la técnica de Patch-Clamp en configuración célula entera, en rebanadas agudas de hipocampo de ratones adultos jóvenes. El incremento de las respuestas tónicas al GABA inducido por L-NAME es insensible a TTX y se puede prevenir por co-incubación con el donador de NO DEA/NO. La aplicación de DEA/NO solo, no produce efecto sobre las respuestas tónicas al GABA. El tratamiento con L-NAME también incrementa la amplitud de las corrientes fásicas evocadas por puffs de GABA. Estos datos sugieren que la magnitud de la inhibición fásica y tónica mediada por los receptores de GABA<sub>A</sub> en las neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo es afectada por la producción endógena de NO. La caracterización de los mecanismos de acción implicados deberá ser abordada en futuros estudios.

Dynamic Regulation of the GABA<sub>A</sub> Receptor Function by Redox Mechanisms.

Calvo DJ, González AN. *Mol Pharmacol*. 2016 Sep;90(3):326-33. doi: 10.1124/mol.116.105205. Epub 2016 Jul 20.

## SIMPOSIO 3

### Alteraciones de la expresión génica como estrategia terapéutica

#### Tratamiento de la hipertrofia cardíaca mediante ARNs de interferencia administrados con vectores virales

Patricio Morgan

Centro de Investigaciones Cardiovasculares “Dr Horacio E. Cingolani”, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte y morbilidad en el mundo. Representan el 48 % de las muertes agrupadas como enfermedades no transmisibles correspondientes a más de 38 millones de muertes en el año 2012. Numerosos análisis epidemiológicos demuestran que la hipertrofia cardíaca patológica (HCP) es un factor de riesgo cardiovascular independiente de falla cardíaca y muerte; a la inversa los tratamientos que reducen la HCP reducen la incidencia de morbilidad. Esta patología se caracteriza por una alteración de la función cardíaca y un remodelado del tejido, con insuficiente vascularización cardíaca, aumento de fibrosis, apoptosis y aumento del tamaño de los miocitos. Clásicamente la HC es interpretada como una respuesta adaptativa crónica a una mayor demanda hemodinámica, que permite reducir el estrés parietal cardíaco. No solo se asocia a la hipertensión sino que también es observada frecuentemente en patologías como la enfermedad renal crónica, diabetes mellitus y obesidad aumentando la morbilidad de las mismas. Actualmente, la organización mundial de la salud identifica varios factores de riesgo vinculados a la HCP como hipertensión, obesidad, consumo elevado de sal entre otros como blancos para poder prevenir el desarrollo prematuro de las enfermedades no transmisibles.

La sobrecarga de presión o volumen induce un estiramiento del miocardio que promueve la formación/liberación de factores neurohumorales pro-hipertroficantes como angiotensina II (Ang II), Endotelina-1 (ET-1) y Aldosterona (Ald) que, brevemente, disparan vías de señalización intracelular que activan al intercambiador de membrana  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE1). La actividad exacerbada del NHE1 aumenta la  $[\text{Na}^+]_i$  y consecuentemente la del  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  a través del intercambiador de membrana  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ . El aumento de la concentración de calcio, promueve la migración al núcleo de factores de transcripción que derivan en el desarrollo de HCP. La tecnología del ARN de interferencia permite el silenciamiento específico de la expresión de una proteína sin afectar a otras, aun con elevados grados de homología. Desarrollamos un ARN pequeño de interferencia (siRNA) específico para el NHE1. Luego de comprobar su efectividad silenciando la expresión transitoria de NHE1 en un sistema

heterólogos de células HEK293 “in vitro”, estudiamos su capacidad silenciadora “in vivo”. En la pared del ventrículo izquierdo del corazón de ratón se inyectaron 20 mg de siRNA y a las 48 hs se observó una reducción significativa de la expresión proteica y función del NHE1 cardíaco (Morgan PE et al (2011). *J Appl Physiol* 111 (2):566-572). Posteriormente mediante el uso de lentivirus se estudió la capacidad de silenciar el NHE1 a largo plazo. Se sintetizó un lentivirus que expresaba la misma secuencia silenciadora y se estudió al NHE1 luego de inyectar ~107 TU en la pared del ventrículo izquierdo del corazón no hipertroficado de ratas normotensas. Luego de 30 días, se confirmó un silenciamiento de la expresión y función del NHE1 (Perez NG et al (2011). *J Appl Physiol* 111 (3):874-880). Finalmente, evaluamos si la inyección del mismo lentivirus era capaz de afectar la HC en el modelo de rata espontáneamente hipertensa (SHR). Después de 30 días de la inyección observamos una reducción del 50% de la expresión proteica y una disminución de la HC sin que fuera modificada la presión arterial. El HW/BW en SHR inyectadas con L-shNHE1 vs L-shSCR fue  $2,98 \pm 0,2$  mg/g (n = 10) vs  $3,34 \pm 0,19$  mg/g, respectivamente. Estos resultados se reflejaron en la reducción del área de los miocitos y de la masa del VI de ~9% evaluada por ecocardiografía. El estrés de la pared parietal es un parámetro que se opone a la contracción ventricular. La reducción del espesor de la pared del VI en ausencia de cambios en la presión y diámetro diastólico ventricular, determinan un aumento del estrés parietal. En contraste con este incremento, el acortamiento medio del VI de las ratas SHR inyectadas con L-shNHE1 vs. L-shSCR no mostró ningún cambio significativo, lo que sugiere en conjunto, una mejora en la contractilidad cardíaca (Nolly MB et al (2015). *J Appl Physiol* (1985) 118 (9):1154-1160).

Como conclusión, el silenciamiento específico y localizado del NHE1 en SHR con L-shNHE1 produjo una reducción de la HC asociada a una mejora del funcionamiento cardíaco, evitando las consecuencias negativas derivadas de efectos inhibitorios del NHE1 en tejidos no cardíacos o inhibiciones inespecíficas de otras proteínas blanco.

#### Modificación genética de células mesenquimales para la regeneración cardíaca.

Paola Locatelli

Instituto de Medicina Translacional, Transplante y Bioingeniería (IMeTTyB-CONICET-Univ. Favaloro)

De acuerdo a la OMS, la enfermedad cardiovascular es la causa número uno de mortalidad a nivel mundial,





siendo responsable del 31% de las muertes. Entre ellas la cardiopatía isquémica es la más frecuente, siendo el infarto agudo de miocardio la complicación más severa. Entre las estrategias experimentales dirigidas a disminuir el tamaño de infarto y prevenir el desarrollo de insuficiencia cardíaca se encuentra el empleo de células mesenquimales (MSCs) de diversos orígenes modificadas genéticamente para sobreexpresar factores de crecimiento y/o citoquinas citoprotectoras.

En nuestro laboratorio hemos realizado dos protocolos utilizando esta metodología en modelos ovinos de infarto agudo de miocardio. En ambos casos las MSCs fueron transfectadas con vectores plasmídicos para sobreexpresar por un lado VEGF165 humano, y por otro una forma de HIF-1 mutado resistente a la degradación en normoxia. Ambos protocolos permitieron reducir de manera significativa el tamaño de infarto en relación al grupo control. Sin embargo la sobreexpresión del factor de transcripción HIF-1 generó un aumento global de la expresión de los genes de respuesta a hipoxia, lo cual se tradujo en una mejoría de mayor magnitud.

En cuanto a los mecanismos generadores de los efectos observados, en el caso de las MSCs que sobreexpresaron VEGF165, hubo un aumento de la angiogénesis en la zona peri-infarto y reducción del depósito de colágeno, mientras que las células que sobreexpresaron HIF-1 mostraron además una reducción de la apoptosis evaluada por TUNEL.

Actualmente, y dadas las características del tejido cardíaco, estamos realizando un análisis del ciclo celular de los cardiomiocitos por medio de la comparación del transcriptoma de cardiomiocitos fetales (mitóticos) y cardiomiocitos adultos (post-mitóticos) con el objetivo de hallar blancos terapéuticos de terapia génica que permitan quitar el freno al ciclo celular, induciendo la mitosis de los cardiomiocitos ventriculares y de esta forma garantizar el acoplamiento electro-mecánico necesario para el funcionamiento efectivo del sincicio miocárdico.

### **Estudio de perfiles de expresión génica en la progresión del cáncer de mama.**

Martin C. Abba

Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (CINIBA), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

El Carcinoma Ductal In Situ (CDIS) es una lesión neoplásica local no invasiva y precursora de los Carcinomas Ductales Infiltrantes (CDI). Las pacientes con CDIS poseen un riesgo 10 veces mayor de desarrollar CDI que las mujeres sin antecedentes en este tipo de lesión. Se estima que un tercio de dichas

lesiones tendrían el potencial de progresar a CDI si no son tratadas debidamente. Actualmente se desconoce la razón por la cual sólo algunos CDIS progresan al estadio invasivo. En el presente estudio se realizó la caracterización molecular del exoma (Exome-Seq), metiloma (RRB-Seq) y transcriptoma (RNA-Seq) de CDIS de alto grado (CDIS-AG) así como la identificación del rol funcional de ARNlnc (ARN largo no codificantes) involucrados con la progresión tumoral.

Identificamos dos subgrupos de CDIS-AG, uno de alto riesgo de progresión tumoral y otro de riesgo moderado, que se diferencian por sus subtipos intrínsecos, índice proliferativo, respuesta inmune y diversas vías de señalización celular. Entre los hallazgos más relevantes se pudo identificar un grupo de 193 ARNlnc diferencialmente expresados entre muestras normales de mama y CDIS ( $p < 0.01$ ,  $FDR < 0.01$ ), 127 de los cuales correspondieron a ARNlnc génicos antisentido y 66 a ARNlnc intergénicos. Aproximadamente el 90% de estos ARNlnc (168 de 193) se encontraron sobreexpresados en CDIS. El análisis de enriquecimiento funcional permitió identificar funciones asociadas a la regulación del ciclo celular, las vías de señalización de TP53, ERBB y diversas MAPKs mediante posible interacción de los ARNlnc con factores de transcripción. Se identificaron 3 ARNlnc intergénico con valor pronóstico independiente de receptores hormonales (ER/PR), grado tumoral y el estatus ganglionar, en muestras de pacientes con carcinomas ductales infiltrantes. Finalmente se identificaron las vías de señalización que podrían estar moduladas por dichos ARNlnc mediante estudios del efecto fenotípico de la sobreexpresión estable en líneas celulares y posterior caracterización del transcriptoma asociado.

Recientemente han sido descritos centenares de ARNlnc en el genoma humano dando lugar a los primeros estudios funcionales. Sabemos que estos transcriptos pueden actuar como oncogenes y pueden ser utilizados como biomarcadores de progresión de la enfermedad. Se espera que la caracterización funcional de estos ARNlnc contribuyan en el diseño de nuevas estrategias terapéuticas que puedan beneficiar a un grupo mayor de pacientes con cáncer de mama.

## SIMPOSIO DE JÓVENES INVESTIGADORES EN FISIOLÓGÍA CARDIOVASCULAR

### Premio SAFIS

#### **El Canal de Protones Voltaje Operado (Hv1) como estructura relevante para la viabilidad de las células T Jurkat. Disrupción de la Homeostasis ácido base e inducción de apoptosis.**

Asuaje Agustín<sup>1</sup>, Smaldini Paola<sup>1</sup>, Orłowski Alejandro<sup>2</sup>, Martín Pedro<sup>1</sup>, Enrique Nicolás<sup>1</sup>, Diaz Zegarra Leandro<sup>1</sup>, González León Carlos<sup>3</sup>, Docena Guillermo<sup>1</sup>, Milesi Verónica<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos (IIFP, CONICET – Universidad Nacional de la Plata). Fac. de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 115, La Plata 1900, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares (CIC, CONICET – Universidad Nacional de la Plata). Fac. de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 120, La Plata 1900, Argentina.

<sup>3</sup>Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso; Facultad de Ciencias; Universidad de Valparaíso. Chile. Pasaje Harrington 287, Playa Ancha, Valparaíso, Chile.

Los canales de protones operados por voltaje (Hv1), codificados por el gen *hvcn1*, median corrientes salientes selectivas a H<sup>+</sup>, evitando ante ciertas circunstancias la acidificación celular y la despolarización de la membrana. Esta función resulta relevante para la mayoría de células del sistema inmune así como para espermatozoides, células del epitelio pulmonar, osteoclastos y fibroblastos miocárdicos. Una regulación fina del pH intracelular (pHi) es indispensable para la supervivencia de la célula, dado que su amplia maquinaria tiene un estrecho rango de pH de actividad óptima (por ej. actividad enzimática). De hecho, la acidificación intracelular es un evento clave en el desarrollo de la apoptosis iniciada por diferentes estímulos. En el caso de las células T Jurkat provenientes de una leucemia humana, Gottlieb y col. demostraron que la acidificación intracelular es necesaria para la inducción de apoptosis. Por otro lado, ha sido ampliamente demostrado que, independientemente de la disponibilidad de oxígeno, las células neoplásicas promueven el uso de vías metabólicas glucolíticas menos eficientes que derivan en la exacerbada producción de especies ácidas, conocido como efecto Warburg. En ausencia de estructuras compensatorias la supervivencia de estas células se vería comprometida, por lo cual, en las células neoplásicas, la actividad del canal Hv1 representaría una ventaja para evitar la muerte celular relacionada con la acidificación. Si bien el canal Hv1 se expresa y es funcional en las células del sistema inmune se desconoce su rol en las neoplasias hematológicas de células T, las cuales presentan la desregulación metabólica mencionada anteriormente,

característica de las células tumorales. En este sentido la inhibición del canal Hv1 podría representar una posible estrategia terapéutica para inducir la muerte tumoral, al igual que otras estructuras, que promueven el eflujo de H<sup>+</sup>, propuestas en oncología experimental como nuevos blancos terapéuticos: el intercambiador Na<sup>+</sup> / H<sup>+</sup> (NHE1), el transportador de ácidos monocarboxílicos (MCT4) y la V-ATPasa.

**Metodología:** Utilizamos para este estudio las células T Jurkat como modelo representativo de leucemia linfoblástica aguda de subtipo T (LLT).

**Electrofisiología:** Se midieron corrientes mediadas por el canal Hv1 en células T Jurkat, mediante la técnica de Patch Clamp en su configuración de whole-cell en condiciones control y en presencia del inhibidor selectivo del canal 5-chloro-2-guanidinobenzimidazol (CIGBI).

**Determinación del pH intracelular (pHi):** Se evaluó el pHi a tiempos cortos (tiempo no mayor a los 40 minutos) en ausencia y presencia de CIGBI mediante el uso de un espectrofluorímetro de cubeta y el indicador ratiométrico BCECF mientras que el efecto de inhibición a tiempos largos (2, 17 y 48 hs) se evaluó mediante Citometría de Flujo con el uso del mismo indicador BCECF.

**Apoptosis.** Se analizó la progresión de muerte celular durante 48 hs en condiciones de bloqueo por CIGBI mediante Citometría de Flujo y marcaje con Annexina V/ Ioduro de Propidio.

**Resultados:** CIGBI (200-800 μM) bloquea las corrientes mediadas por Hv1 en forma dependiente de la concentración. Los valores de densidad de corriente (I/Cm) difieren significativamente a partir de -10 mV (ANOVA test, p<0,05) entre 200 y 800 μM, y los de 800 μM no difieren de los de 500 μM indicando que el efecto es dependiente de la concentración y que a 800 μM se alcanza el efecto máximo. Al potencial (Vm) de +20mV, 200 μM produce una disminución del 52,33 ± 2,42 % de la densidad de corriente (I/Cm) mientras que 500 y 800 μM reducen el mismo parámetro en un 69,70 ± 6,62 y 71,06 ± 3,12 (n=6-8), respectivamente. El bloqueo de Hv1 induce un descenso inmediato en el pHi. Evaluado en ausencia de Na<sup>+</sup> extracelular el pHi de las células T Jurkat desciende 0,12 unidades luego del agregado de Cl-GBI 200 μM (n=6). Así mismo la velocidad inicial de recuperación luego del estímulo con Ácido Propiónico se redujo de 0,026 H<sup>+</sup> mM/min (situación control) a 0,006 H<sup>+</sup> mM/min en Cl-GBI 200 μM (n=6). Con el objetivo de evaluar si tal efecto era reproducible en condiciones fisiológicas, donde el intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (NHE) pueda encontrarse activo, se repitió el experimento en presencia de Na<sup>+</sup>



extracelular, obteniéndose un descenso en el pHi basal de 0,05 unidades y un cambio en la velocidad de recuperación de 0,10 H<sup>+</sup>mM/min (situación control) a 0,05 H<sup>+</sup> mM/min (n=6). En todos los casos las diferencias han sido significativas respecto al control p=0,05.

En condiciones de cultivo el bloqueo de Hv1 genera un profundo descenso en el pHi. El cultivo en presencia de Cl-GBI produce una acidificación dosis y tiempo dependiente (Two Way ANOVA, p=0,05). A a las 2 hs desciende por debajo de 7,00 y llega a 6,60 ± 0,04 en presencia de Cl-GBI 200 μM durante 48 hs (n=6).

El bloqueo del canal Hv1 induce la muerte celular de las células T Jurkat por apoptosis. En condiciones de cultivo, la presencia de Cl-GBI en el medio durante 2, 17 y 48 hs en concentración 200 u 800 μM produce un aumento significativo de las poblaciones celulares Anexina+/IP- (células apoptóticas) el cual depende del tiempo de incubación pero no de la concentración de Cl-GBI; y un aumento de la población Annexina V +/IP+ (células necróticas) dependiente del tiempo y de la concentración de Cl-GBI (Two way ANOVA, p=0,05, n=4-7).

**Conclusión:** nuestros resultados muestran cómo la actividad del canal Hv1 es determinante para la regulación basal del pH intracelular en las células T Jurkat derivadas de una leucemia humana, y contribuyen a la respuesta celular ante cargas ácidas, en presencia o ausencia de la actividad del NHE. Este hecho es de vital importancia para una célula neoplásica donde predomina una alta tasa de producción de especies ácidas. La inhibición a largo plazo del canal Hv1 produce una marcada acidificación celular derivando en la muerte por apoptosis.

### **Efectos de la exposición previa a nicotina sobre las propiedades reforzantes de la nicotina.**

A Pisera Fuster, R Bernabeu.  
IFIBIP-UBA-CONICET

Una posible aproximación al estudio de los efectos de las drogas de abuso es evaluar los factores que puedan influenciar su establecimiento y describir los posibles mecanismos involucrados; en este sentido, nos propusimos estudiar la posible asociación entre las conductas desencadenadas por la nicotina y ciertos parámetros moleculares.

Nuestro laboratorio trabaja estudiando los efectos de la nicotina, el principal componente psicoactivo presente en el tabaco y el responsable de sus propiedades adictivas. Como modelo animal para el estudio de dichas propiedades utilizamos el paradigma

comportamental de condicionamiento preferencial a un lugar (CPP). En base a nuestros trabajos previos, decidimos evaluar si un pre-tratamiento con nicotina puede modificar sus propiedades reforzantes y que mecanismos podrían participar en dicho proceso. Existen evidencias de que la asociación droga-entorno que se genera durante un CPP puede ser influenciada tanto por períodos de abstinencia como por la exposición previa a la droga, sin embargo los estudios realizados, sólo en roedores, muestran resultados ambiguos en cuanto a la consecuencia de la exposición previa a la droga, mientras que se ha sugerido que períodos de abstinencia podrían potenciar los efectos reforzantes de la nicotina.

Nuestro modelo experimental, el pez cebra, es utilizado cada vez más en el área de las neurociencias ya que ha probado ser un excelente modelo de vertebrado y extensivas investigaciones han mostrado su homología con mamíferos a nivel genético, conductual, endocrino y neural.

Por otro lado, un gran número de trabajos han hecho hincapié en la importancia de los mecanismos epigenéticos en el establecimiento de la adicción a drogas de abuso. En general, los mecanismos epigenéticos incluyen el aumento en la acetilación de histonas por histonas acetiltransferasas (HATs) es asociado con relajación de la cromatina y una elevada actividad transcripcional, mientras que una disminución de la acetilación mediada por histonas deacetilasas (HDACs) se asocia con la compactación de la cromatina y por tanto una menor transcripción génica. Al nivel del ADN, las enzimas que lo metilan (ADN metiltransferasas o DNMTs) promueven que ciertas proteínas se unan al ADN compactándolo y reprimiendo la expresión de genes. Recientemente se encontraron enzimas que desmetilan el ADN, como TET y GADD45, las cuales tienen el efecto opuesto. Estudios previos de nuestro laboratorio sugieren que ciertos factores epigenéticos estarían involucrados en los efectos comportamentales generados por la nicotina en ratas, aunque no existen antecedentes de estudios similares en peces cebra.

Nosotros presentamos el año pasado un trabajo con peces cebra adultos en el que demostramos cambios en la expresión de determinados factores epigenéticos (DNMT1, TET1, GADD45, SIRT1 y HDAC1) y de transcripción (PITX3 y EGR1) luego de una exposición crónica por 14 días y bajo un régimen (novedoso) de administración de la droga solamente durante el día (día/noche), tratando de emular lo que sucede con los fumadores, que están abstinentes durante la noche. Como paso siguiente, nos propusimos evaluar cómo se vería modificado el establecimiento de la asociación droga-entorno (CPP) cuando el animal ha sido



durante el día (día/noche), tratando de emular lo que sucede con los fumadores, que están abstinentes durante la noche. Como paso siguiente, nos propusimos evaluar cómo se vería modificado el establecimiento de la asociación droga-entorno (CPP) cuando el animal ha sido previamente expuesto crónicamente o día/noche a la droga durante 14 días. Se realizaron estudios analizando la variación de los patrones de expresión del ARNm de factores epigenéticos y de transcripción en los peces sometidos a los tratamientos descriptos. Para esto utilizamos un modelo animal de pez cebra adulto y un protocolo de CPP sesgado, en el que se utilizó una pecera con 2 compartimentos comunicados. Uno de ellos marrón claro (color preferido por el pez) y el otro blanco con puntos negros (entorno que el pez evita). La exposición previa a la nicotina (15µM) por 14 días, se realizó disolviendo la droga directamente en el agua, en condiciones mínimamente estresantes para el animal. 24hs luego de los 14 días de exposición, se inicio el CPP de nicotina, consistente en 1 día de pre-test (donde se cronometra el tiempo que el animal pasa en cada compartimento para evaluar su preferencia inicial), 3 días de Condicionamiento (asociando el compartimento no preferido con la droga), y en el 5to día se realiza el test (igual al pre-test). Los animales fueron sometidos a eutanasia a las 18hs y sus cerebros extraídos y homogenizados para obtener cDNA utilizado en el análisis de la expresión de ARNm por PCR cuantitativa de las moléculas de interés: EGR1, un marcador de actividad neuronal, PITX3, asociado al mantenimiento y diferenciación de neuronas dopaminérgicas, DNMT1, TET1, GADD45, HDAC1 y SIRT1. Los resultados comportamentales, se obtuvieron mediante el análisis de los videos registrados en las sesiones de PreTest y Test empleando un software de tracking.

Los animales pertenecientes al grupo de pre-exposición día/noche mostraron, luego del condicionamiento, un CPP robusto, superior incluso al CPP de nicotina sin pre-exposición, mientras que los del grupo de pre-exposición continua no fueron capaces de establecer CPP.

Estos resultados parecerían acompañar la teoría de que los períodos de abstinencia son un factor facilitador de la transición del uso casual al consumo compulsivo de una droga.

Asimismo, estas alteraciones en el comportamiento asociado a la nicotina se vieron reflejadas en los niveles de expresión de los factores epigenéticos y de transcripción analizados.

Particularmente, los animales del grupo de pre-exposición continua sugieren cambios tendientes a lo que podría ser una mayor expresión de genes en

general, debido a los niveles disminuidos de DNMT1 y SIRT1 acompañados con un aumento en TET1 tanto luego de la preexposición como después del CPP. Por su parte los peces pertenecientes al grupo intermitente mostraron una inclinación hacia una mayor compactación de la cromatina exhibiendo valores aumentados de DNMT1, HDAC1 y SIRT1, sin embargo evidenciaron también aumentos en TET1, sugiriendo un posible sistema dinámico donde estaría ocurriendo en simultáneo la activación y desactivación de diferentes grupos de genes. Además, luego del CPP se observó un aumento de la expresión de Egr1 y Pitx3 sugiriendo una mayor plasticidad neuronal, posiblemente en el sistema dopaminérgico.

### **Rol de AQP2 y TRPV4 en la activación y modulación de señales de Ca<sup>2+</sup> en células renales.**

Alejandro Pizzoni; Macarena López González; Gisela Di Giusto; Valeria Rivarola; Claudia Capurro; Paula Ford. Laboratorio de Biomembranas, IFIBIO Houssay (UBA-CONICET)

La entrada de Ca<sup>2+</sup> desde el medio extracelular es esencial para la activación de diversas funciones celulares. SOCE (del inglés "Store Operated Calcium Entry") es un importante mecanismo para el ingreso de Ca<sup>2+</sup> regulado por el nivel de Ca<sup>2+</sup> en los depósitos intracelulares. Los recientes descubrimientos en relación con SOCE han abierto nuevos caminos en la investigación de como este catión dirige el destino celular. La entrada selectiva de Ca<sup>2+</sup> esta mediada por la interacción de dos moléculas STIM1 y ORAI1. STIM1 es un sensor de Ca<sup>2+</sup> en el retículo endoplasmático y ORAI1 es un canal en la membrana por el cual ingresa Ca<sup>2+</sup> para rellenar los depósitos. También se han descrito a TRPC1 como componente clave en la entrada de Ca<sup>2+</sup>. El rol de otros TRPs como el canal de Ca<sup>2+</sup> TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloid 4) en SOCE es aún controvertido (Ma y col., 2011; Lorenzo y col., 2008). Recientemente se ha descrito que existe un complejo TRPV4-STIM1 que modifica la localización de TRPV4 en membrana (Shin y col., 2015). Un trabajo previo de nuestro laboratorio demostró que, en células renales, la activación y localización del TRPV4 es modulada por el canal de agua AQP2 (Acuaporina 2) en condiciones de hipotonía. Este mecanismo juega un rol fundamental en la regulación del volumen celular (Galizia y col., 2012). Otros autores encontraron que TRPV4 interacciona con AQP4 y AQP5 modulando el volumen celular en distintos sistemas (Liu y col., 2006; Benfenati y col., 2011, Jo y col. 2015). El objetivo del presente trabajo fue estudiar, en células renales, las



consecuencias de la interacción TRPV4-AQP2 sobre SOCE en condiciones de isoosmolaridad. Utilizamos como modelo dos líneas celulares que derivan de túbulo colector de rata; una que no expresa AQP2 (WT-RCCD1) y otra, transfectada en forma estable con cDNA de AQP2 (AQP2-RCCD1) (Capurro y col., 2001; Ford y col., 2005). Utilizando un protocolo clásico para cuantificar SOCE evaluamos mediante la técnica de microscopia de fluorescencia los cambios en los niveles intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$  [ $\text{Ca}^{2+}$ ]<sub>i</sub> y en el potencial de membrana (Vm) utilizando FURA2-AM y DIBAC<sub>4</sub>(3) respectivamente. Encontramos que, al activar el TRPV4 con un activador específico (4  $\mu$ M PDD, 10  $\mu$ M) SOCE fue mayor en las células que expresan AQP2 respecto de las WT (Figura 1, A y B). La incubación con un inhibidor de SOCE (SKF-96365, 20  $\mu$ M) anuló las diferencias encontradas al activar TRPV4 (Figura 1C). Dado que SOCE es un mecanismo altamente sensible a alteraciones del Vm (Bird y col., 2008) estudiamos si activar TRPV4 durante SOCE modificaba el Vm. Encontramos que las diferencias observadas en SOCE correlacionan con cambios opuestos en el Vm al activar el TRPV4. Las células que expresan AQP2 se hiperpolarizan y las células WT se despolarizan (Figura 1D). Se ha descrito que la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de TRPV4, puede activar canales de  $\text{K}^+$  sensibles a  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{K}_{\text{Ca}}$ ). La activación de TRPV4 entonces, puede producir una hiperpolarización (Arnhold y col., 2007; Sonkusare y col., 2012; Berrout y col., 2014) o una despolarización (Konno y col., 2012) en función de diferencias en la expresión de canales TRPV4 y  $\text{K}^{\text{Ca}}$ . Recientemente se ha descrito en túbulo colector de ratón, que la activación de TRPV4 gatilla canales SK3 (un subtipo de  $\text{K}_{\text{Ca}}$ ) produciendo una hiperpolarización del Vm (Berrout y col 2014). Teniendo en cuenta estos hallazgos, probamos el efecto de la apamina (300 nM), un inhibidor de canales SK, sobre la potenciación de SOCE por TRPV4 en células que expresan AQP2. La figura 1E muestra que la apamina disminuye el aumento de SOCE observado en las células AQP2-RCCD1 y no tuvo consecuencias sobre SOCE en ausencia de activación de TRPV4. Nuestros resultados sugieren que TRPV4 activa canales SK3 generando una hiperpolarización del Vm, que a su vez potencia a SOCE en forma AQP2 dependiente. Por otra parte, experimentos diseñados para evaluar la acción de la fuerza impulsora sobre SOCE mostraron que ante una despolarización (generada por un aumento del  $\text{K}^+$  extracelular) los niveles de [ $\text{Ca}^{2+}$ ]<sub>i</sub> disminuyen en células WT en forma significativamente mayor que en células que expresan AQP2 (pendientes:  $\text{WT}_{\text{HK}} = -0,021 \pm 0,001 \text{ s}^{-1}$  vs.  $\text{AQP2}_{\text{HK}} = -0,003 \pm 0,001 \text{ s}^{-1}$ ;  $p < 0,01$   $n = 70$ ) (Figura 1, F y G). Por el contrario, cuando solo se modificó el

gradiente químico las respuestas de células WT-RCCD<sub>1</sub> y AQP2-RCCD<sub>1</sub> fueron similares (pendientes:  $\text{WT}_{\text{Lca}} = -0.016 \pm 0.001 \text{ s}^{-1}$  vs.  $\text{AQP2}_{\text{Lca}} = -0.015 \pm 0.001 \text{ s}^{-1}$ ; NS  $n = 70$ ). Estos resultados evidenciaron que la modulación de TRPV4 sobre SOCE en células AQP2-RCCD<sub>1</sub> no se debe a una mayor sensibilidad de estas frente a cambios en el Vm. Por otra parte, experimentos de inmunofluorescencia mostraron que la taspigargina (droga utilizada para gatillar SOCE) induce un aumento de los niveles de TRPV4 en la membrana plasmática solo en las células que expresan AQP2 (Figura 1H). Este resultado se basa en experimentos donde cuantificamos los niveles de colocalización de TRPV4 con la membrana plasmática (marcada con Wga-488) mediante el coeficiente de Pearson en células WT-RCCD<sub>1</sub> y AQP2-RCCD<sub>1</sub> pretratadas durante 10 minutos, con taspigargina o vehículo (DMSO). Los únicos valores significativamente distintos de cero fueron los de las células AQP2-RCCD<sub>1</sub> tratadas con taspigargina ( $0,15 \pm 0,04$ ;  $n = 12$ ). Conjuntamente los resultados del presente trabajo muestran nuevos roles para AQP2 que son independientes de alteraciones de la osmolaridad del medio extracelular. Demostramos por primera vez, en células renales que los cambios en el Vm asociados a la activación de TRPV4 dependen de la expresión de AQP2. En particular, la expresión de AQP2 facilita la activación del canal SK que conduce a una hiperpolarización de la membrana celular, impactando en SOCE. Además la modulación de SOCE por AQP2 implica translocación de TRPV4 a la membrana confiriendo una respuesta distinta a cambios del gradiente eléctrico. La disfunción de los mecanismos implicados en la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  subyace a un número de procesos patológicos que incluyen al cáncer. Por lo tanto, es muy probable que la interacción entre AQPs y TRPV4 altere una variedad de procesos que afectan a la homeostasis celular con consecuencias en el crecimiento, la proliferación la migración y la diferenciación celular.

### Bibliografía

- Arnhold y col., 2007; Am J Vet Res 68(10):1095- 105.
- Benfenati y col., 2011; PNAS 108: 2563-2568.
- Berrout y col., 2014; PLoS ONE 9(4): e95149.
- Bird y col., 2008; Methods 46(3): 204.212.
- Capurro y col 2001; J Membr Biol. 179, 63-70.
- Ford y col. 2005; Biol. Cell. 97, 687-697.
- Galizia y col., 2012; J Cell Biochem 113: 580-589.
- Joy y col., 2015; J Neurosci 35(39):13525-13537.
- Konno y col., 2012. Glia 60(5):761-770.
- Liu y col., 2006. J Biol Chem 281:15485-15495.
- Lorenzo y col., 2008; PNAS 105:12611-12616. Ma y



col., 2011; Cell Calcium 50(6):502-509.  
Shin y col., 2015; Open Biochem J 31(9):24-33  
Sonkusare y col., 2012; Science 336(6081):597-601.

### **Rol del receptor purinérgico P2X7 en la regulación de la proliferación y diferenciación celular en la retina del zebrafish adulto.**

Matías P.N. Medrano, M. Paula Faillace  
Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay  
(IFIBIO-Houssay) UBA-CONICET.

A diferencia de los mamíferos, la retina de los peces teleosteos crece durante la vida adulta y se regenera luego de un daño. La regeneración se inicia cuando la glía de Müller recibe señales del microambiente dañado (factores de crecimiento, citocinas, nucleótidos extracelulares) que inducen su desdiferenciación parcial y reingreso al ciclo celular dando progenitores multipotentes capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares retinianos.

Se demostró en el laboratorio que el sistema purinérgico, en particular el ADP extracelular (ADPe) a través del P2Y1R, incrementa el número de progenitores derivados de la glía de Müller y posiblemente participa de la inducción de la regeneración, a partir de la activación mitótica de una subpoblación de células de Müller. Asimismo, la señalización activada por el ADPe y el P2Y1R estimula la actividad proliferativa de precursores de fotorreceptores bastones en la capa nuclear externa (ONL). Además, esta vía regula la proliferación del epitelio ciliar con células progenitoras multipotentes que se diferencian y promueven el crecimiento tisular. Por otro lado, varios tipos de receptores purinérgicos, que unen nucleótidos y nucleósidos extracelulares, y las enzimas que los hidrolizan (E-NTPDasas) se distribuyen diferencialmente en las capas retinianas. De este modo, la activación prolongada del P2X7R potencia patologías retinianas, donde ocurren incrementos muy significativos en la [ATP extracelular] ([ATPe]: 50-100mM). Este receptor, cuyo rol no ha sido elucidado en la retina de zebrafish, provoca muerte celular por ingreso de Ca<sup>2+</sup> y activación de la microglía que libera más ATP y factores pro-inflamatorios (TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ). En contraste, este receptor activado por concentraciones fisiológicas de ADPe (5-10 $\mu$ M), posee roles neuro-glio-protectores y media la transmisión sináptica entre neuronas y glía de Müller. Asimismo, el P2X7R regula el flujo sanguíneo local, volumen celular y crecimiento axonal. En la retina de roedores, en diferentes modelos de injuria, aumenta la expresión del P2X7R.

### **Objetivo:**

Nos propusimos estudiar el rol del P2X7R en modelos de lesión/regeneración y durante el crecimiento normal retiniano en el zebrafish adulto.

### **Métodos:**

Para examinar la participación del P2X7R en el crecimiento celular, se trataron retinas sin lesionar de zebrafish con agonistas (ATP $\gamma$ S o BzATP) y/o un antagonista específico del P2X7R (A740003, 25 $\mu$ M), mediante microinyecciones intraoculares (in vivo) de estos compuestos.

Para estudiar el rol del P2X7R en la regeneración, se realizaron 2 tipos de injuria, en presencia o ausencia de A740003 inyectado intraocularmente durante varios días:

1- Se lesionaron principalmente las capas internas de la retina mediante la inyección de la toxina Ouabaína (8 $\mu$ M) que inhibe la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa. Los peces fueron sacrificados a los 7 días post lesión (dpl) durante el pico de proliferación.

2- Se optimizó un nuevo tipo de injuria en nuestro laboratorio, además del ya caracterizado modelo citotóxico con Ouabaína, basado en la inyección de CoCl<sub>2</sub>, un inhibidor de la degradación del Factor Inducible por Hipoxia. El CoCl<sub>2</sub> (1.5mM) causó principalmente muerte de los fotorreceptores. Los peces fueron sacrificados en el pico de proliferación celular a los 4 dpl, descrito en nuestro laboratorio.

### **Resultados:**

El tratamiento intraocular tanto de ATP $\gamma$ S (800 $\mu$ M) como de BzATP (800 $\mu$ M) indujo aumentos significativos en la proliferación de células progenitoras retinianas, a los 4 días post inyección, respecto a los ojos inyectados con vehículo. El ATP $\gamma$ S indujo un incremento exclusivamente del número de precursores de los bastones, sin provocar daño, ya que no se observaron cambios apreciables en la activación glial o la arquitectura retiniana. Este efecto no fue bloqueado por el antagonista A740003.

El BzATP, por otro lado, estimuló regeneración celular caracterizada por la presencia de clusters de células mitóticamente activas en la capa nuclear interna (INL) y un aumento de la expresión de GFAP en la glía de Müller. Además, se detectó apoptosis en la ONL, con un anticuerpo anti- Caspasa 3 activada. Todos estos efectos fueron inhibidos completamente por la co-inyección de A740003.

Resultados preliminares sugieren que el receptor P2X7R participa diferencialmente en los dos modelos de lesión. En lesiones con Ouabaína, la presencia de A740003 potenció el daño, denotado por una morfología retiniana desordenada y un aumento



significativo en el número de células proliferativas (clusters en la INL). Por otro lado, en retinas tratadas con  $\text{CoCl}_2$  y el antagonista del P2X7R, se observó una mejor conservación tisular y una menor cantidad de células proliferativas. Además, los niveles de ARNm del P2X7R, determinados por PCR cuantitativa, aumentaron significativamente en este modelo de lesión. No se observaron diferencias significativas en la lesión con Ouabaína.

### **Conclusiones:**

Estos resultados sugieren la participación del P2X7R en la inducción de la injuria, principalmente en las capas externas, y la consecuente activación glial e inducción proliferativa de progenitores retinianos. En contraste, el ATP indujo un incremento de precursores proliferativos en la ONL, que podría deberse a la activación de otro receptor purinérgico como el P2Y<sub>1</sub>R, estimulando la generación de bastones durante el crecimiento de la retina.

Los resultados en conjunto sugieren mecanismos de regulación dual del P2X7R en ambos modelos de lesión. En este sentido, la activación prolongada del P2X7R por BzATP o la lesión de los fotorreceptores y células del Epitelio Pigmentario, que liberan al medio extracelular concentraciones milimolares de ATP, provocaría un incremento de la expresión de las subunidades del P2X7R además de una sobre-activación prolongada, induciendo la formación de homómeros del P2X7R con un poro que permite un ingreso masivo de  $\text{Ca}^{2+}$  induciendo apoptosis. Por otro lado, la lesión con ouabaína no provoca aumentos en la expresión del P2X7R y posiblemente, la liberación de ATP al medio extracelular sería menor, debido al reducido número de células en las capas más internas (ganglionares y amácrinas) y no induciría la formación de grandes poros en el P2X7R. Por consiguiente, la activación de este receptor por concentraciones extracelulares de ATP no tan elevadas, causaría neuroprotección o inhibición de la proliferación en las capas internas (glia de Müller, endotelio, microglía).

Estos modelos permiten analizar con detalle el rol de los diferentes componentes del sistema purinérgico en procesos patológicos que afectan a los fotorreceptores o principalmente, a las capas internas y células ganglionares.

## SIMPOSIO 4

### Nuevos conceptos acerca de la fisiopatología de los ritmos circadianos

#### **Estudios cronobiológicos en situaciones extremas de aislamiento y confinamiento.**

Daniel E. Vigo

Instituto de Investigaciones Biomédicas (UCA-CONICET). Faculty of Psychology and Educational Sciences, Katholieke Universiteit Leuven.

El estudio de fenómenos fisiológicos en situaciones extremas, más allá de representar un fin en sí mismo, permite abrir ventanas a mecanismos que de otra forma podrían pasar desapercibidos, lo que a su vez puede llevar al desarrollo de aplicaciones en otros contextos fisiológicos o clínicos. Las situaciones de aislamiento o confinamiento extremas en grupos humanos son difíciles de lograr, pero al mismo tiempo brindan una excelente oportunidad para la evaluación de modificaciones en diversos ritmos biológicos. Una de estas oportunidades estuvo dada por el proyecto Mars 500, de la Academia Rusa de Ciencias y la Agencia Espacial Europea, donde se simularon a lo largo de 520 días en instalaciones específicamente construidas en la ciudad de Moscú, las condiciones de confinamiento a las que se vería sometida una tripulación de seis sujetos en un eventual viaje a Marte. Este tipo de diseño permite controlar diversos factores experimentales, pero pierde valor en términos de la fidelidad con que puede reproducir el estrés propio del aislamiento extremo. En este sentido, el estudio de dotaciones en bases Antárticas posibilita evaluar al mismo tiempo condiciones de confinamiento y aislamiento real. Por su localización, la base Belgrano II de Argentina representa un escenario ideal para llevar adelante éstas investigaciones. Comparte con otras estaciones como la base europea Concordia las mismas características de aislamiento y foto-periodicidad, pero al estar ubicada a nivel del mar, se posiciona como un lugar ideal para el desarrollo de estudios fisiológicos propios que además puedan servir como controles de otros llevados adelante por la comunidad internacional. En esta oportunidad, se presentarán resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo correspondientes a los proyectos Mars 500 y "Cronobiología del aislamiento antártico: el uso de la Base Belgrano II como análogo espacial".

#### **Desincronización circadiana crónica en un modelo de tumorigénesis y en la regulación del peso corporal.**

Dra. Natalia Paladino

Laboratorio de Cronobiología, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina

Prácticamente todas las funciones fisiológicas,

metabólicas y neuroetológicas en los mamíferos presentan oscilaciones de período cercano a 24 h, llamados ritmos circadianos, controladas por un reloj central localizado en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) del hipotálamo. La desincronización circadiana crónica ha sido asociada a diversos trastornos de la salud, como disfunción cardiovascular, alteraciones gastro intestinales, síndrome metabólico, y disfunción reproductiva. Cabe destacar que la Organización Mundial de la Salud considera el trabajo nocturno como un factor de riesgo para la aparición de ciertos tipos de cánceres.

La desincronización forzada del ritmo de actividad general puede inducirse en animales utilizando protocolos de jet-lag crónico (JLC) experimental. Estos esquemas de iluminación obligan al reloj circadiano central a la resincronización permanente. En particular, nuestro laboratorio ha desarrollado un modelo de desincronización en ratones, en el cual se realizan avances de 6 h cada 2 días del ciclo LO normal (12 horas de Luz, 12 horas de Oscuridad). Este esquema de iluminación induce, además de la modificación de la expresión de genes reloj, alteraciones en el metabolismo de lípidos, como un incremento en los niveles de triglicéridos circulantes y en el tamaño de los adipocitos, junto con un incremento de peso corporal. Sin embargo, este fenotipo no se observa cuando los animales tienen libre acceso a ruedas de locomoción, o cuando se realizan protocolos de alimentación restringida a la fase de oscuridad.

Por otro lado, evaluamos el efecto de la desincronización circadiana sobre la tumorigénesis experimental, utilizando un modelo de melanoma murino. El protocolo de JLC induce una disminución de la latencia, junto con un incremento en la tasa de crecimiento y en el porcentaje de toma de dichos tumores. Adicionalmente, evaluamos la respuesta inmune anti-tumoral, y observamos un patrón diario de expresión de citocinas proinflamatorias con máximos diurnos en los tumores de animales mantenidos en condiciones normales de LO, patrón que se pierden en aquellos mantenidos bajo esquemas de JLC.

En conclusión, la desincronización circadiana crónica induce, junto con la desregulación de la expresión de los genes reloj en diferentes tejidos, un desbalance en la homeostasis de variables metabólicas e inmunes, y promueve el incremento del desarrollo tumoral.

#### **Sincronización lumínica del reloj circadiano en los mamíferos.**

Juan José Chiesa, María Soledad Alessandro, Fernando Martín Baidanoff, Santiago Andrés Plano,





Diego Andrés Golombek.

Laboratorio de Cronobiología, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes.

Prácticamente todas las funciones fisiológicas, metabólicas y neuroetológicas presentan oscilaciones de período cercano a 24 hs. (ritmos circadianos), controladas por un reloj principal que en los mamíferos se halla localizado en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) del hipotálamo. Los NSQ son responsables de generar y coordinar temporalmente por vía neuro-humoral y autonómica estas oscilaciones circadianas, si bien el principal valor adaptativo del reloj es su capacidad para sincronizarlas con el ciclo diario de luz-oscuridad de 24 hs. En el laboratorio hemos estudiado la sincronización lumínica de los NSQ utilizando el ritmo de actividad locomotora como salida. Los NSQ reciben el estímulo fótico en la región ventral por proyecciones retinianas ganglionares-hipotalámicas glutamatérgicas. La interacción postsináptica con el receptor metabotrópico para N-metil-D-aspartato, activa vías de transducción que mediante segundos mensajeros modificarán la actividad de genes propios del mecanismo molecular del reloj (p. ej., *period*, *cryptochrome*). Experimentos previos en nuestro laboratorio permitieron caracterizar la activación tanto de calmodulina quinasa, sintetasa de óxido nítrico (ON), guanilato-ciclasa, guanosil-monofosfato cíclico (cGMP), su degradación por fosfodiesterasas, y la activación de la proteína quinasa dependiente de cGMP (PKG). Además de su rol como mensajero intracelular, hemos hallado que el ON participa como mensajero extracelular para la comunicación fótica en los NSQ. Actualmente estamos buscando otros componentes hipotéticos río abajo de la vía ON-GC-cGMP-PKG, que puedan actuar como sustratos de PKG. Identificamos a sustrato G, cuya fosforilación por luz en los NSQ parece ser específica, y cuya forma fosforilada (pSG) interactúa con la fosfatasa de proteínas 2A (PP2A), posiblemente actuando como un modulador negativo de su actividad. Por otro lado, estamos estudiando una vía no-clásica, regulada por otras especies dependientes de oscilaciones circadianas en el estado redox (p. ej., nitroxil, +ON, glutatión reducido, GSH, glutatión S-nitrosilado, GSNO). Hemos hallado que dadores farmacológicos de +ON y GSNO potencian el efecto fótico. Estas especies nitrérgicas podrían participar como intermediarios en la oxidación de residuos de cisteínas (S-nitrosilaciones, S-NO). Además en ensayos *in vitro* hallamos que las S-NO son intermediarias en la homodimerización de PER2 y CRY2, posiblemente regulando su degradación. Finalmente, tenemos evidencias de que agentes antioxidantes como L-N-acetilcisteína modifican per se la fase del ritmo

locomotor. Estos hallazgos aportan nuevos componentes en el camino de transducción lumínica en los NSQ: 1) PKG-SG-pSG-PP2A, que podría actuar como un bucle positivo amplificando la fosforilación de factores de transcripción de genes reloj (p. ej., proteína de unión en respuesta a adenosín monofosfato cíclico, CREB); 2) oxidaciones por S-NO, que podrían actuar regulando la activación de componentes de la vía, o la cinética (vida media) de componentes del reloj, y cambios en el estado redox, que podrían modular la actividad espontánea del oscilador circadiano molecular.

# REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

## LISTADO DE RESÚMENES

### Cardiovascular y Respiratorio 1

**1. ESTUDIO DOSIS-RESPUESTA DE LA PROTEÍNA HIGH MOBILITY GROUP BOX-1 (HMGB1) Y SUS EFECTOS SOBRE LA FUNCIÓN VENTRICULAR IZQUIERDA EN UN MODELO OVINO DE INFARTO DE MIOCARDIO.** <sup>1</sup>MR Bauzá, <sup>1</sup>CS Gimenez, <sup>1</sup>P Locatelli, <sup>2</sup>A De Lorenzi, <sup>1</sup>S Wray, <sup>1</sup>LA Cuniberti, <sup>1</sup>FD Olea, <sup>1</sup>A Crottogini. <sup>1</sup>IMETTYB-Universidad Favaloro-CONICET. <sup>2</sup>Hospital Universitario Fundación Favaloro.

**Introducción:** Se ha demostrado que la administración de la proteína pro-inflamatoria HMGB1 en ratones con infarto agudo de miocardio (IAM) induce angiogénesis por sobreexpresión de VEGF y miocardiogénesis por proliferación de células madre cardíacas c-kit<sup>+</sup> y su diferenciación a cardiomiocitos, mejorando la función ventricular. Sin embargo algunos estudios han arrojado resultados controversiales sobre el efecto beneficioso de esta proteína y su dosis óptima. Además se desconoce el efecto de HMGB1 en mamíferos grandes, lo cual dificulta que los resultados sean extrapolables al hombre.

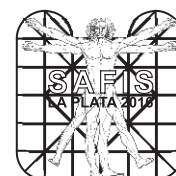
Por lo tanto nuestros objetivos fueron sucesivamente: 1) determinar la dosis que presenta mayor efecto angiogénico y 2) evaluar el efecto de esta dosis sobre la función ventricular en ovejas con infarto de miocardio.

**Métodos y resultados:** Para el objetivo 1), ovejas con IAM recibieron inyecciones conteniendo 10 µg (n=7), 1 µg (n=7) de HMGB1 o placebo (PBS, n=7) en el peri-IAM. A los 7 días post-tratamiento se demostró que, en comparación con el placebo, sólo la dosis alta (10 µg) aumentaba la densidad capilar (2828,3±255 vs 1711,9±97 capilares/mm<sup>2</sup>, X±SE, ANOVA-Bonferroni, p<0.01), la densidad arteriolar (39,4±3,9 vs. 23,2±1,8 arteriolas/mm<sup>2</sup>, p<0.05) y la expresión de genes involucrados en angiogénesis y diferenciación celular (VEGF, cKit, nkx2.5). Para el objetivo 2), ovejas con IAM recibieron con igual técnica HMGB1 10 µg (n=6) o placebo (n=6). Previo al IAM, a los 3 días y a los 30 días del mismo, se midió engrosamiento parietal sistólico de cara septal (EPS%) y de cara ántero-lateral (EPA%) y fracción de eyección (FE%) por ecocardiografía. Como era de esperar, a los 3 días post-IAM los 3 parámetros disminuyeron significativamente respecto al basal. A los 30 días, en el grupo placebo el EPS% disminuyó de 42,2±3,2 a 7,4±5,7% (p<0.01), el EPA% de 41,6±5,9 a 14,6±5,7% (p<0.01) y la FE% de 68,5±5,6 a 51,8±6,3% (p<0.05). En cambio, en el grupo tratado a los 30 días, EPS% no cambió respecto al valor basal (30,9±6,8 vs. 34,3±6,8%, p=NS), como tampoco cambió EPA% (42,6±3 vs. 27,3±5,1%, p=NS) ni FE% (66,8±3,2 vs. 54,4±5,4%, p=NS).

**Conclusión:** Sólo dosis altas de HMGB1 inducen neovascularización y expresión de genes de angiogénesis y diferenciación celular, lo cual, a su vez, preserva la función ventricular en un modelo ovino de infarto agudo de miocardio.

**2. LA REPERFUSIÓN ÁCIDA DISMINUYE EL TAMAÑO DEL INFARTO EN EL CORAZÓN AISLADO DE RATA: QUINASAS INVOLUCRADAS.** A Ciocci Pardo, LF González Arbeláez, JC Fantinelli, SM Mosca. Centro de Investigaciones Cardiovasculares Dr Horacio E. Cingolani, CCT-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

El retardo en la normalización de la acidosis isquémica al inicio de la reperfusión protege al miocardio contra las alteraciones producidas por la isquemia-reperfusión. La prevención de la formación del poro de permeabilidad transitoria mitocondrial es uno de los principales mecanismos implicados en dicha cardioprotección. Sin embargo, las vías involucradas no están totalmente aclaradas. Para ello, realizamos experimentos en corazones aislados de rata perfundidos por la técnica de Langendorff. Después de 20 minutos de estabilización, los corazones fueron asignados a los siguientes grupos: 1) Control no isquémico (CNI): 110 min de perfusión; 2) Control isquémico (CI): 30 min de isquemia global (interrupción total del flujo coronario) y 60 min de reperfusión (R); 2) Reperfusión ácida (RA): Durante los primeros 3 minutos de la R los corazones recibieron una solución de pH = 6.4. El tamaño del infarto (TI) fue medido por medio de la tinción con sales de tetrazolio. La función miocárdica fue determinada a través de la presión desarrollada por el ventrículo izquierdo (PDVI), la velocidad máxima de desarrollo de la presión (+dP/dtmax), la velocidad máxima de descenso de la presión (-dP/dtmax), el tiempo hasta alcanzar el 50 % de la presión pico (t1/2), la constante de tiempo de relajación (τ) y la presión diastólica final (PDFVI). Se midió la expresión de las formas fosforiladas de p38MAPK, ERK1/2, Akt y PKC. RA disminuyó el TI (11 ± 2 % vs 32 ± 2%) y mejoró la recuperación postisquémica de la función miocárdica. Al final de R, los valores fueron los siguientes: PDVI: 54 ± 3 % vs 18 ± 3 %; +dP/dtmax: 53 ± 1.5 % vs 15 ± 4 %; -dP/dtmax: 54.3 ± 3.5 % vs 14 ± 4 %; PDFVI: 22 ± 3



vs  $52 \pm 7$  mmHg,  $p < 0.05$ . En el grupo CI,  $t_{1/2}$  no se modificó y aumentó a los 5 min de R, retornando a los valores preisquémicos hacia el final de R. En el grupo RA no experimentó cambios. La expresión de las quinasas mencionadas disminuyó en el grupo CI (entre un 30 y 50%) y aumentó en el grupo RA (entre un 40 y 60 %) comparado con el CNI, tomado como 100%.

Estos datos muestran que la RA atenúa la muerte celular y mejora la función miocárdica postisquémica. Estas acciones beneficiosas estarían mediadas por vías de señalización que involucran a las quinasas p38MAPK, ERK $^{1/2}$ , Akt y PKC.

### **3. LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR GPR30 INHIBE LA HIPERTROFIA CARDIACA INDUCIDA POR LA ALDOSTERONA.** RA Di Mattía, EA Aiello, A Orłowski. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. UNLP-CONICET.

El GPR30 se describió como un receptor huérfano de membrana asociado a proteína G. Años más tarde se propuso al estrógeno como posible ligando. Se ha demostrado que la activación del GPR30 por su agonista sintético G1 tiene efectos cardioprotectores. La administración de G1 es capaz de reducir el tamaño de infarto en isquemia-reperfusión y atenuar la falla cardíaca. Es conocido que los efectos perjudiciales de la aldosterona (Ald) a nivel cardíaco son a través del receptor de mineralocorticoide (MR). La activación del MR genera hipertrofia cardíaca y fibrosis así como también insuficiencia y falla cardíaca. Recientemente, se postuló que los efectos rápidos de la Ald en el corazón son a través del receptor GPR30, sin embargo estos resultados se contraponen con los efectos beneficiosos de la activación del GPR30. El objetivo fue evaluar el rol de la activación del GPR30 en un modelo de hipertrofia cardíaca inducida por Ald. Se utilizó cultivos de cardiomiocitos neonatales de ratas Wistar. Se realizó una curva dosis-respuesta a Ald o a G1 midiendo el área celular de los cardiomiocitos. Se encontró un incremento significativo del área celular cuando se incubó con Ald (área U.A., control:  $186 \pm 11$ ,  $n=20$ ; Ald(0.1nM):  $185 \pm 12$ ,  $n=22$ ; Ald(1nM):  $202 \pm 12$ ,  $n=17$ ; Ald(10nM):  $260 \pm 21^*$ ,  $n=23$ ; Ald(100nM):  $268 \pm 17^*$ ,  $n=29$ ; Ald(1000nM):  $275 \pm 15^*$ ,  $n=14$ ;  $*p < 0.05$ ), mientras que el tamaño no se modificó en presencia de G1 (área U.A., control:  $186 \pm 11$ ,  $n=20$ ; G1(0.1nM):  $189 \pm 10$ ,  $n=26$ ; G1(1nM):  $192 \pm 13$ ,  $n=30$ ; G1(10nM):  $188 \pm 7$ ,  $n=24$ ; G1(100nM):  $197 \pm 11$ ,  $n=30$ ; G1(1000nM):  $196 \pm 14$ ,  $n=22$ ). Cuando se incubó los cardiomiocitos con Aldo 10nM conjuntamente con G1 se inhibió el efecto hipertrofiante de la Ald (área U.A., control:  $524 \pm 9$ ,  $n=96$ ; Ald(10nM):  $737 \pm 9^*$ ,  $n=93$ ; Ald(10nM)+G1(1000nM):  $351 \pm 10$ ,  $n=96$ ;  $*p < 0.05$ ). Se estudió mediante western-blots la vía intracelular involucrada a través de la fosforilación de AKT. La incubación con G1 (1000nM) o G1+Ald(10nM) produjo un aumento de la fosforilación de AKT, mientras que no se observaron cambios en los niveles de fosforilación luego de la incubación con Ald (10nM). Resta por definir si la activación de AKT por G1 es la vía responsable de la inhibición de hipertrofia inducida por Ald.

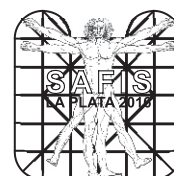
### **4. EFECTO DE LA MELATONINA SOBRE LA HETEROGENEIDAD VENTRICULAR Y LAS ARRITMIAS DE REPERFUSIÓN EN CORAZONES DE RATAS IN SITU.** <sup>1</sup>ER Diez, <sup>2</sup>K Sedova, <sup>1</sup>NJ Prado, <sup>1</sup>T Brennan, <sup>3</sup>RM Miatello, <sup>1</sup>AZ Ponce Zumino. <sup>1</sup>Instituto de Fisiología, FCM, UNCuyo IMBECU-CONICET. <sup>2</sup>Department of Biomedical Engineering, Czech Technical University, Czech Republic. <sup>3</sup>Área de Fisiopatología, FCM, UNCuyo IMBECU-CONICET.

Las arritmias ventriculares y la muerte súbita cardíaca son complicaciones de los síndromes coronarios agudos. La melatonina reduce la incidencia y la duración de las arritmias ventriculares, pero los mecanismos antiarrítmicos persisten por dilucidar. El objetivo de este estudio fue investigar si la dispersión en la actividad eléctrica ventricular contribuye al efecto antiarrítmico de la melatonina en un modelo experimental de isquemia/reperfusión.

Los experimentos se realizaron corazones in situ a tórax abierto en ratas hembras anestesiadas y ventiladas artificialmente. La despolarización y repolarización del miocardio fueron obtenida mediante cartografía de potenciales epicárdicos utilizando una matriz de 64 electrodos. Los electrogramas unipolares se registraron en el estado basal y durante la oclusión (8 min) y la reperfusión (10 min) de la arteria descendente anterior coronaria. El grupo experimental recibió la melatonina en una dosis de 4 mg/kg 1 min antes de la reperfusión.

Durante la reperfusión, la melatonina redujo la incidencia de arritmias graves ventriculares (taquicardia y/o fibrilación) de 13/17 en el grupo control a 2/10 ( $p < 0,01$ ). La melatonina impidió el acortamiento en el tiempo de repolarización en la zona reperfundida ( $p < 0,05$ ), lo que llevó a un patrón más homogéneo de repolarización global debido a una reducción en la dispersión ( $p < 0,05$ ).

Concluimos que el efecto antiarrítmico de la melatonina administrada durante la reperfusión se relaciona con su



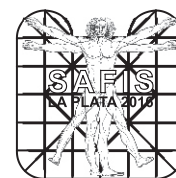
capacidad para evitar la dispersión global de la repolarización ventricular. Los resultados en corazones in situ respaldan su potencial translación hacia la clínica.

**5. EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON SILDENAFIL (SIL) INDUCE REGRESIÓN DE LA HIPERTROFIA MIOCÁRDICA EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS (SHR). DS Escudero, RG Díaz, MS Brea, E Portiansky, NG Pérez. Centro de Investigaciones Cardiovasculares (UNLP).**

En trabajos previos hemos demostrado que la hiperactividad del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE1) es responsable del desarrollo de hipertrofia cardíaca (HC) en SHR. También hemos probado previamente que el aumento de la actividad de PKG por inhibición de la fosfodiesterasa 5A (FDE5A) con SIL inhibe al NHE1 por disminución de su estado de fosforilación. La hipótesis a probar en el presente trabajo fue que el SIL promueve regresión de la HC en SHR. Se trataron ratas SHR adultas durante 3 meses con SIL (100 mg/Kg/día, n=4) y se las comparó con controles no tratados (n=6). El tratamiento no alteró la presión arterial [ $205 \pm 7$  (SHR) vs.  $206 \pm 15$  mmHg (SHR+SIL)] ni el porcentaje de acortamiento medio-ventricular medido por ecocardiografía [ $25.7 \pm 2.2$  (SHR) vs.  $27.6 \pm 1.3$  % (SHR+SIL)]. Post-sacrificio, los animales tratados con SIL mostraron un menor índice de HC (estimado mediante el cociente peso ventricular izquierdo/peso corporal) que sus controles no tratados [ $3.2 \pm 0.1$  (SHR) vs.  $2.7 \pm 0.1$  mg/g (SHR+SIL),  $p < 0.05$ ], lo cual correlacionó con una menor área de sección transversal de los cardiomiocitos ( $688 \pm 39$  vs.  $496 \pm 23$  mm<sup>2</sup> respectivamente,  $p < 0.05$ ). El tratamiento también disminuyó la fibrosis intersticial miocárdica estimada mediante porcentaje de colágeno [ $7.01 \pm 0.02$  (SHR) vs.  $1.36 \pm 0.01$  % (SHR+SIL),  $p < 0.05$ ]. Este efecto tuvo su correlato funcional en una menor rigidez de la pared evaluada comparando curvas longitud-tensión en músculos papilares aislados de ventrículo izquierdo provenientes de ambos grupos experimentales ( $p < 0.05$ , ANOVA de 2 vías). No se observaron cambios en la fosforilación de las quinasas “upstream” del NHE1: ERK1/2 [ $100 \pm 19$  (SHR) vs.  $85 \pm 16$  % (SHR+SIL)] o p90RSK [ $100 \pm 3$  (SHR) vs.  $88 \pm 6$  % (SHR+SIL)] descartando su participación en los efectos descritos. Tampoco hubo cambios significativos en la expresión del NHE1 [ $100 \pm 12$  (SHR) vs.  $103 \pm 21$  % (SHR+SIL)]. Los resultados obtenidos permiten concluir que el SIL reduce la HC y la fibrosis miocárdica en ratas SHR, lo cual redundará en un mejoramiento de la función cardíaca evidenciada por una menor rigidez de la pared ventricular y por el mantenimiento de su capacidad de acortamiento a pesar de un mayor estrés parietal (misma poscarga con menor espesor de pared). Aunque sin sustento experimental hasta el momento, nuestros trabajos previos invitan a especular que una disminución en el estado de fosforilación del NHE1 (y su consecuente inhibición) por el tratamiento con SIL sería la causa de los efectos beneficiosos de este compuesto sobre el miocardio hipertrófico.

**6. ROL FISIOLÓGICO DE LA RETROALIMENTACIÓN ENTRE EL COTRANSPORTADOR SODIO/BICARBONATO (NBC) Y LA ADENILATO CICLASA SOLUBLE (sAC) EN EL CORAZÓN. MS Espejo, A Orlowski, MC Ciancio, EA Aiello, VC De Giusti. Centro de Investigaciones Cardiovasculares Dr. Horacio E. Cingolani, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.**

El AMP cíclico (AMPC), producto de la adenilato ciclasa (AC) participa de importantes cascadas de señalización intracelular cardíacas. La AC clásica se localiza en la membrana plasmática (mAC), pero recientemente se ha identificado una AC soluble (sAC), cuya actividad es regulada por  $\text{HCO}_3^-$ . Se encuentra en el miocardio, sin embargo su función se desconoce. Nuestro laboratorio investiga el rol del cotransportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  (NBC), que promueve el coinflujo de estos iones. Debido a esto, se busca investigar la relación entre NBC y sAC y su impacto en la fisiología cardíaca. Se utilizaron cardiomiocitos ventriculares de rata cargados con Fura-2 o Fluo-3 para medir la amplitud del transitorio de calcio (TCa) por epifluorescencia y la frecuencia de chispas de calcio mediante microscopía confocal, respectivamente. El acortamiento sarcomérico se registró simultáneamente a la epifluorescencia. Además se cargaron miocitos con BCECF (indicador de pH), y se realizaron dobles pulsos de amonio en medio con  $\text{HCO}_3^-$  + HOE642 10  $\mu\text{M}$  (inhibidor del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ) para evaluar la actividad del NBC. \* $p < 0,05$ . La preincubación de los miocitos con el inhibidor del NBC, S0859 (10  $\mu\text{M}$ ) produjo un efecto inotrópico negativo (EIN; Control:  $19,1 \pm 3,2\%$  vs. S0859:  $14,6 \pm 2,6\%*$ ; n=9). Una situación similar se observó utilizando KH7 1  $\mu\text{M}$  (inhibidor de sAC; Control:  $15,7 \pm 0,7\%$  vs. KH7:  $11,3 \pm 0,9\%*$ ; n=5). Incluso, el agregado de S0859 a la solución con KH7 no aumentó su EIN, sugiriendo la secuencialidad de la vía. Dado que el AMPC estimula la proteína quinasa A (PKA), los miocitos se preincubaron con su inhibidor, H89 (100nM) y se encontró un



inotrópico negativo (EIN; Control:  $19,1 \pm 3,2\%$  vs. S0859:  $14,6 \pm 2,6\%*$ ;  $n=9$ ). Una situación similar se observó utilizando KH7  $1\mu\text{M}$  (inhibidor de sAC; Control:  $15,7 \pm 0,7\%$  vs. KH7:  $11,3 \pm 0,9\%*$ ;  $n=5$ ). Incluso, el agregado de S0859 a la solución con KH7 no aumentó su EIN, sugiriendo la secuencialidad de la vía. Dado que el AMPc estimula la proteína quinasa A (PKA), los miocitos se preincubaron con su inhibidor, H89 ( $100\text{nM}$ ) y se encontró un EIN (Control:  $9,43 \pm 0,95\%$  vs H89:  $6,65 \pm 0,77\%*$ ;  $n=12$ ). Nuevamente la combinación de KH7 y H89 no generó un EIN mayor. El EIN se correspondió con una disminución de la amplitud del TCa en presencia de S0859 (Control:  $0,57 \pm 0,07\text{UA}$  vs. S0859:  $0,48 \pm 0,06\text{UA}*$ ;  $n=5$ ), KH7 (Control:  $0,37 \pm 0,05\text{UA}$  vs. KH7  $0,30\text{UA} \pm 0,03*$ ;  $n=10$ ) y S0859 + KH7 (Control:  $0,37 \pm 0,05\text{UA}$  vs S0859+KH7:  $0,26 \pm 0,02\text{UA}*$ ;  $n=10$ ). Se determinó la frecuencia de chispas de calcio liberadas por el retículo sarcoplasmático, para evaluar actividad del receptor de Rianodina (blanco de PKA). La relación de chispas [post 3Hz]/ [post 0.5Hz] control ( $1,23 \pm 0,11$ ;  $n=5$ ) disminuyó significativamente en presencia de KH7 ( $0,32 \pm 0,16*$ ,  $n=5$ ) y S0859 ( $0,62 \pm 0,20*$ ,  $n=5$ ). Finalmente, se evaluó la regulación del NBC mediante pulsos de amonio, al preincubar las células con KH7 o H89 el flujo de protones (JH) aumentó significativamente (KH7:  $142,39 \pm 13,53\%*$  H89:  $145,50 \pm 16,05\%*$  vs Control:  $100,00 \pm 6,66\%$ ), infiriendo una retroalimentación negativa de la sAC hacia el NBC por medio de PKA. Estos resultados revelan por primera vez la implicancia fisiológica cardíaca de la relación entre la sAC y el NBC.

**7. SIMULACIÓN DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA BASADA EN EFECTOS SOBRE EL MIOCITO UTILIZANDO UN MODELO DEL SISTEMA CIRCULATORIO.** <sup>1</sup>Ji Felice, <sup>2</sup>Ei Cabrera-Fischer, <sup>3</sup>S Kosta, <sup>3</sup>PC Dauby, <sup>2</sup>EC Lascano, <sup>2</sup>JA Negroni. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CCT-La Plata-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Medicina Translacional, Transplante y Bioingeniería, Universidad Favaloro-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>University of Liège, GIGA-In Silico Medecine, Liège, Belgium.

**Introducción:** Numerosos estudios han postulado distintas alteraciones celulares para explicar los mecanismos que producen la insuficiencia cardíaca (IC), pero aún no se conoce con exactitud su acción simultánea en el desarrollo de esta enfermedad. En este sentido, la utilización de modelos matemáticos podría brindar información sobre el conjunto de los mecanismos subyacentes de la IC. No obstante, los modelos de miocito que reproducen hallazgos experimentales de IC a nivel celular no contemplan los mecanismos contráctiles, y otros que integran miocitos a circuitos circulatorios carecen de la caracterización adecuada de las cámaras cardíacas.

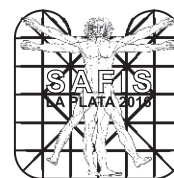
**Objetivos:** Desarrollar un modelo de corazón basado en un miocito y con representación contráctil, integrado a un sistema circulatorio total, y analizar el impacto de alteraciones celulares de IC conocidas sobre la respuesta hemodinámica y de función ventricular, validándolo con resultados experimentales obtenidos en ovejas con IC aguda producida por 15 min de sobredosis (3-4%) de halotano.

**Métodos:** En el modelo circulatorio, los ventrículos se representaron mediante el modelo de miocito humano de ten Tusscher y Panfilov (Am J Physiol, 2006), modificado y acoplado a nuestro modelo contráctil (Negroni, JMCC, 2015). Las paredes ventriculares se construyeron sobre la base del modelo de Regen (Circ Res, 1990), considerando que el ventrículo izquierdo está formado por tres capas para caracterizar adecuadamente el espesor parietal. Las aurículas se representaron como cámaras elásticas. El modelo de corazón se acopló a un circuito circulatorio sistémico y pulmonar caracterizado por resistencias y capacitancias. La IC se simuló mediante la disminución de la actividad de bomba de recaptura reticular de  $\text{Ca}^{2+}$  (-24%) y de las corrientes de  $\text{K}^{+}$  (IK1:-36% e Ito:-49%), y el aumento del intercambiador  $\text{Na}^{+}\text{-Ca}^{2+}$  (100%) (Puglisi, Am J Physiol, 2001) y de la liberación reticular diastólica (100%) (Shannon, Circ Res, 2003). Los animales ( $n=17$ ) fueron instrumentados con cristales piezoeléctricos (espesor parietal, EP), catéter de Swan Ganz (volumen minuto, VM) y catéter aórtico (presión, PA).

**Resultados:** Experimentalmente, el halotano disminuyó la presión arterial media (PAM), el VM y la fracción de EP (FEP) a un  $73,2\% \pm 9,16\%$ ,  $72,6\% \pm 18,2\%$  y  $69,8\% \pm 28,4\%$ , del valor basal, respectivamente ( $p < 0,01$  vs 100% basal) y la simulación arrojó resultados comparables: 77.8%, 70.8% y 61.7% para PAM, VM y FEP.

**Conclusiones.** El modelo utilizado pudo simular los comportamientos hemodinámicos y contráctiles regionales observados experimentalmente y podría ser útil para predecir efectos de drogas sobre los parámetros afectados por la IC.

**8. LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES (TSH) CONSIGUE MODULAR DIRECTAMENTE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CARDÍACA.** <sup>1</sup>MJ Fernández Ruocco, <sup>2</sup>H Alonso, <sup>2</sup>M Gallego, <sup>1</sup>B Farjun, <sup>1</sup>Y Schleier, <sup>2</sup>O Casis, <sup>1</sup>E Medei. <sup>1</sup>Laboratório de Cardiologia Celular e Molecular. Instituto Carlos Chagas Filho. Universidade Federal do Rio de



Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Vitoria, España.

### **Introducción:**

El electrocardiograma de pacientes hipotiroideos presenta una serie de anomalías en la repolarización cardíaca como consecuencia de la reducción de algunas corrientes repolarizantes de K<sup>+</sup> y el incremento de la corriente de calcio tipo L (ICa-L). Trabajos previos experimentales y clínicos cuestionan el hecho de que los únicos mecanismos involucrados en estos cambios sean consecuencia de cambios en las concentraciones de T3 y T4. De este modo, algunos trabajos vienen mostrando una estrecha correlación entre altas concentraciones de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y arritmias cardíacas en pacientes con hipotiroidismo clínico y subclínico. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue investigar los efectos directos de TSH sobre las propiedades eléctricas cardíacas.

### **Métodos:**

Fueron estudiados los efectos agudos (30 min) y después de 24h de la activación del receptor de TSH (30 mUI/ml) en preparados cardíacos de ratas adultas. En primer lugar fueron estudiados los efectos agudos sobre el electrocardiograma en corazones perfundidos en un sistema Langendorff y la corriente transitoria de salida de potasio (I<sub>to</sub>) utilizando la técnica de Patch Clamp en miocitos ventriculares.

Luego, los efectos de 24h fueron estudiados inicialmente por registros del potencial de acción cardíaco en el epicardio de fragmentos de ventrículos izquierdos de rata y posteriormente por registros de las corrientes de potasio I<sub>K</sub>, I<sub>Kur</sub>, I<sub>to</sub> e I<sub>K1</sub> y la ICa-L en miocitos ventriculares. Finalmente por el método de qPCR fue determinada la expresión del mRNA de las subunidades de los canales estudiados de muestras de corazones de rata adulta y humana expuestas 24h a TSH.

### **Resultados:**

La hormona TSH no mostró efectos agudos sobre la actividad eléctrica cardíaca. Sin embargo, la exposición 24h de la misma generó un aumento en la duración del potencial de acción por consecuencia de la reducción en la amplitud de la corriente I<sub>to</sub>. También observamos una reducción en la expresión del mRNA de las subunidades formadoras de I<sub>to</sub>: Kv4.2, Kv4.3 y KChIP2.

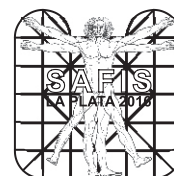
Interesantemente, los corazones humanos expuestos 24h a TSH mostraron disminución del mRNA de KCNQ1, la subunidad alfa de la corriente I<sub>Ks</sub>, una de las principales corrientes repolarizantes en los corazones humanos.

### **Conclusión:**

Estos resultados apoyan la idea de que TSH actuando directamente en el corazón podría estar involucrado en los disturbios eléctricos cardíacos previamente descritos en los pacientes hipotiroideos.

**9. ROL DE LA ANHIDRASA CARBÓNICA Y TRANSPORTADORES IÓNICOS EN LA CARDIOMIOPATÍA DIABÉTICA.** <sup>1</sup>C Jaquenod de Giusti, <sup>1</sup>FE Carrizo Velázquez, <sup>2</sup>PG Blanco, <sup>1</sup>JM Lofeudo, <sup>1</sup>BV Álvarez. <sup>1</sup> Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP - CONICET. <sup>2</sup>Servicio de Cardiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP - CONICET.

La cardiomiopatía diabética (DC) describe los cambios en la estructura y función del miocardio asociados a la diabetes, que generalmente conducen a falla cardíaca. El pH intracelular del miocardio (pHi) es regulado por transportadores ácido base (ABT) como el intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> NHE1, el cotransportador Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> NBC y el intercambiador Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> AE, entre otros. Las alteraciones en el pHi producen cambios en la función cardíaca, mientras que cambios en la actividad/expresión de NHE1, NBC, y AE se han asociado con desordenes cardiovasculares. Por otro lado, las anhidrasas carbónicas (CA) son enzimas ampliamente distribuidas en órganos y tejidos, que catalizan la conversión reversible de CO<sub>2</sub> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. La interacción física y funcional entre las CA y los ABT NHE, AE y NBC que ocurre en células musculares cardíacas, optimizando el flujo de iones, creando un metabolón de transporte de membrana (MTM). En este trabajo se estudió el rol del MTM en la disfunción cardíaca ligada a la obesidad y la DC. Se caracterizó la expresión y función de CA y los ABT NHE y NBC utilizando un modelo murino de obesidad (ratones C57BL6 ob<sup>-/-</sup>). Nuestros resultados confirmaron características de DC en el corazón de ratones hembras C57BL6 ob<sup>-/-</sup>, caracterizada por un aumento en el espesor del septum interventricular y la pared posterior, y aumento en el diámetro del ventrículo izquierdo. Así mismo, los ratones ob<sup>-/-</sup> presentaron



aumento en la masa del ventrículo izquierdo así como en el índice de masa del ventrículo, indicando hipertrofia cardíaca. Para estudiar la actividad del NHE1 en los ratones ob<sup>-/-</sup> y sus controles wild type (ob<sup>+/+</sup>), cardiomiocitos aislados de estos ratones fueron cargados con el indicador fluorescente BCECF-AM y la recuperación del pHi dependiente de NHE-1 fue medida luego de someter a los miocitos a una sobrecarga ácida (pulso de NH<sub>4</sub>Cl) y registrada por epifluorescencia. Los resultados mostraron un aumento en la actividad del NHE1 en el corazón hipertrófico de los ratones ob<sup>-/-</sup> comparado con los ratones ob<sup>+/+</sup>, 0,30 ± 0,02 vs. 0,20 ± 0,02 unidades de pH units.min<sup>-1</sup>.100, respectivamente (p<0,01). Los niveles de expresión de la isoforma CA II evaluados por inmunoblots, mostraron una expresión aumentada en los miocitos aislados de ratones ob<sup>-/-</sup> comparado con los ratones ob<sup>+/+</sup> (0,54 ± 0,14 vs. 2,50 ± 0,33 unidades arbitrarias; p<0,05). Concluimos que el aumento en la expresión de CAII y el incremento en la actividad del NHE1 estarían asociados a la patología cardíaca en la DC.

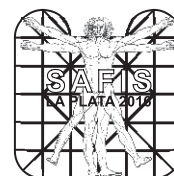
**10. SEÑALIZACIÓN INDUCIDA POR EL ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO DURANTE LA ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN MIOCARDICA.** JIE Mariángelo, R Becerra, L Vittone, M Salas, M Said, C Mundiña-Weilenmann. Centro de Investigaciones Cardiovasculares - Facultad Ciencias Médicas- Universidad Nacional de la Plata.

Durante la isquemia y reperfusión del miocardio (I/R), la síntesis y plegamiento de proteínas a cargo del retículo endoplasmático (RE) se ven afectados, alteración conocida como estrés del RE. Como consecuencia se activan vías de señalización conocidas como respuesta a las proteínas mal plegadas. Si el estrés del RE es transitorio y moderado, se activa la vía del factor ATF6, cuya forma clivada actúa como un factor de transcripción induciendo la expresión de varios genes, entre ellos XBP1. Junto con ATF6, XBP1 induce la expresión de la proteína chaperona GRP78 que tiende a restablecer la función normal del RE. Sin embargo cuando el estrés es prolongado o severo, se activan vías que conducen a la muerte por apoptosis. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la señalización celular inducida por el estrés del RE en corazones aislados y perfundidos de ratas sometidos a I/R (30min/60min). Se evaluó la expresión de ARN mensajero de: XBP1, GRP78 y GAPDH (como normalizador) por PCR en tiempo real. En homogenatos de tejido ventricular se inmunodetectaron GRP78 y GAPDH. A los 60min de R, los niveles de ARNm de XBP1 y GRP78 se incrementaron respecto a los valores controles en 1,30±0,13 y 1,36±0,07 veces respectivamente (n=10, p<0,05). Coincidentemente, a nivel de proteína, se detectó un aumento de GRP78 (131,7±5,8 % del control, n=5-6, p<0,05). Los resultados obtenidos sugieren que, en nuestras condiciones, el estrés del RE inducido por la I/R está activando vías cardioprotectoras como la de ATF6/XBP1.

**11. PREVENCIÓN DE LA HIPERTROFIA CARDÍACA Y EL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDOS POR ANGIOTENSINA II MEDIANTE EL SILENCIAMIENTO MIOCARDICO SELECTIVO DEL INTERCAMBIADOR NA<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (NHE-1).** AJ Medina, C Caldiz, IL Ennis. Centro de Investigaciones Cardiovasculares Dr Horacio E. Cingolani.

En trabajos previos demostramos que la hiperactividad del NHE-1 miocárdico desempeña un papel protagónico en el desarrollo de hipertrofia cardíaca patológica (HC). La vía de señalización intracelular implicada involucra un aumento de la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS). Más aun, el estrés oxidativo es una característica distintiva de enfermedades cardiovasculares. Nuestro objetivo fue prevenir el desarrollo de HC y el estrés oxidativo inducidos por la administración continua de angiotensina II (ANGII), por medio de la inyección intramiocárdica de un lentivirus que porta un siRNA específico para el NHE-1 (I-shNHE1) en ratas Wistar.

Inicialmente se corroboró la eficiencia del I-shNHE1 para disminuir la expresión del NHE-1 (Western-blot) y función (recuperación del pH de una acidosis intracelular) en células HEK293 y en homogenatos de corazones inyectados. El I-shNHE1 disminuyó ~35% la expresión y un ~52 % la actividad del NHE-1. Se determinó masa cardíaca, presión arterial y producción miocárdica de ROS luego de 4 semanas de infusión continua de ANGII tanto en el grupo control (C) como en el inyectado con I-shNHE1. La inyección del I-shNHE1 disminuyó significativamente los parámetros ecocardiográficos de HC comparados con el grupo C (IMV: -0.075±0.085 vs. 0.153±0.043, PPD: -0.015±0.001 vs. 0.09±0.0265, SD: -0.06±0.02 vs. 0.01±0.025, delta entre día 0 y 28 en I-shNHE1 vs. control, p<0.05). De igual forma disminuyó el índice de HC masa ventricular/longitud de la tibia (HW/TL: 19,04±1,66 vs. 24,36±1,13; I-shNHE1 vs. control, p<0.05). La infusión continua de ANGII indujo un aumento significativo de la presión arterial, situación que no se modificó por la inyección del I-shNHE1 (144±4 mm Hg vs. 145±4 mm Hg luego de 28 días de ANGII, C vs. I-shNHE1). Además se determinó la producción miocárdica de O<sub>2</sub><sup>-</sup> en respuesta a distintos agonistas como la aldosterona (ALD) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), que ya hemos demostrado que éstos participan en la cascada de señalización de ANGII. En los C la ALD y el EGF produjeron un



aumento significativo de la producción de O<sub>2</sub>- respecto del basal (ALD:  $81.2 \pm 26\%$ ; EGF:  $46.8 \pm 7.3\%$ ; vs B  $p < 0.05$ ), efecto que se vio disminuido significativamente en el miocardio de las ratas inyectadas con l-shNHE1 ( $37.3 \pm 14.2\%$ ;  $7.7 \pm 13.8\%$  para ALD y EGF respectivamente).

En función de los resultados obtenidos sugerimos que la disminución de la expresión miocárdica del NHE-1 a través del l-shNHE1 constituye una posible estrategia terapéutica en la prevención de la HC.

**12. IMPACTO DEL CLAMPEO ARTERIAL SOBRE LA RIGIDEZ ARTERIAL CUANTIFICADA A TRAVÉS DEL ÍNDICE DE AUMENTACIÓN Y LA DIMENSIÓN FRACTAL DE LA PRESIÓN ARTERIAL DURANTE CIRUGÍAS VASCULARES.** <sup>1</sup>MT Politi, <sup>2</sup>SA Wray, <sup>1</sup>JM Fernández, <sup>3</sup>J Gaudric, <sup>3</sup>A Ghigo, <sup>3</sup>PY Lagrée, <sup>1</sup>C Capurro, <sup>3</sup>JM Fullana, <sup>2</sup>R Armentano. <sup>1</sup>Laboratorio de Biomembranas. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay). CONICET-UBA, Departamento de Ciencia Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155, C1121ABG Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Escuela de Estudios Avanzados en Ciencias de la Ingeniería, Universidad Tecnológica Nacional (EEACI - UTN). Sarmiento 440, C1041AAJ Buenos Aires, Argentina. Universidad Favaloro. Solís 453, C1078AAI Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Institut Jean Le Rond d'Alembert, Sorbonne Universités, UPMC, Paris 06, CNRS, UMR 7190, F-75005 Paris, France.

**Introducción:** El clampeo arterial es una estrategia frecuentemente utilizada en la cirugía vascular y su duración es un predictor independiente de los resultados quirúrgicos. El impacto del clampeo arterial sobre las propiedades viscoelásticas del sistema arterial y sus mecanismos subyacentes siguen siendo pocos claros. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de clampeo arterial sobre la rigidez arterial.

**Métodos:** Un estudio observacional, de corte transversal, antes y después fue diseñado para enrolar a pacientes adultos sometidos a cirugía vascular. El índice de aumentación normalizado a 75 latidos por minuto (Alx@75) y la dimensión fractal (DF) -indicadores indirectos de rigidez arterial- se calcularon a partir de los trazados continuos de presión arterial radial durante la cirugía.

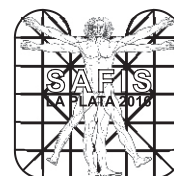
**Resultados:** Fueron analizados los trazados de presión arterial continua de 8 pacientes. Los datos globales incluyeron 4 intervenciones aórticas y 11 intervenciones ileofemorales. En ambos tipos de intervenciones, tanto aórticas como ileofemorales, después del clampeo arterial, la mediana Alx@75 aumentó y la DF disminuyó, en ambos casos de manera significativa; lo contrario ocurrió después de desclampeo arterial. La correlación de Spearman sugiere una fuerte correlación negativa entre la mediana de Alx@75 y la DF durante cada estado hemodinámico para las intervenciones de aorta. Nuestros resultados son consistentes en muchos niveles: a) actos opuestos (es decir, el clampeo y el desclampeo) producen cambios en sentidos opuestos, b) dos indicadores diferentes (es decir, Alx@75 y DF) sugieren el mismo fenómeno subyacente, y c) resultados similares se observan en diferentes sitios vasculares (es decir, la aorta y a nivel iliofemoral).

**Conclusión:** Globalmente nuestros datos sugieren de manera consistente que existe un aumento en la rigidez arterial durante el clampeo arterial y una reducción durante el desclampeo. A pesar de la gran distancia entre los sitios de intervención aórtico o iliofemoral y el sitio de registro a nivel radial, el monitoreo continuo de la presión radial aún es capaz de detectar sistemáticamente estos fenómenos vasculares.

**13. EL AUMENTO DE LA DEFENSA ANTIOXIDANTE POR SOBRE-EXPRESIÓN DE TIORREDOXINA 1 (TRX1) CANCELA EL DESARROLLO DE LA SEGUNDA FASE DE FUERZA (SFF).** MR Zavala, RG Díaz, M Donato, R Gelpi, NG Pérez, MC Villa-Abrille. Centro de Investigaciones cardiovasculares, Fac. Cs Médicas UNLP.

El estiramiento del miocardio induce un aumento rápido de fuerza contráctil (mecanismo de Frank-Starling) seguido de uno lento llamado segunda fase de fuerza (SFF). Hemos demostrado previamente que la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) inducidas por el estiramiento es crucial para el desarrollo de la SFF, debido a que promueven la activación de quinasas redox sensibles, ERK1/2 y p90RSK, y del intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (NHE-1). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la sobre-expresión de TRX1 (proteína del "sistema de tiorredoxina" expresada de forma ubicua con importante capacidad antioxidante) sobre el desarrollo de la SFF y la fosforilación del NHE-1. Para evaluar el desarrollo de la SFF utilizamos músculos papilares aislados del ventrículo izquierdo de ratones wild-type (WT) y con sobre-expresión de TRX1, los que fueron estirados desde el 92 al 98 % de su longitud máxima. El aumento de la capacidad antioxidante de los ratones que sobre-expresaron TRX1 no provocó cambios significativos en la fosforilación basal (detectada por inmunoblot) de las quinasas redox-sensibles ERK1/2 o p90RSK en comparación con los WT (p-ERK1/2:  $105.4 \pm 9.9\%$  del WT, n=4; p-p90RSK:  $111 \pm 15\%$  del





WT, n=3). Tampoco se observaron diferencias en la expresión basal del NHE1 ( $100 \pm 13$  % del WT, n=4, ns). La SFF fue  $137 \pm 1$ % de la fase rápida inicial en los ratones WT (n=8,  $P < 0.05$  vs. fase rápida), mientras que fue completamente cancelada en los ratones que sobre-expresan TRX1 ( $100 \pm 3$ %, n=7,  $P < 0.05$  vs. control SFF). El conocido aumento de la fosforilación del NHE1 inducido por el estiramiento fue significativamente mayor en los ratones WT ( $156 \pm 6$ % del control, n =3,  $P < 0.05$ ) que en los que sobre-expresan TRX1 ( $126.1 \pm 8.4$ % del control, n=3, ns). Los resultados, aunque preliminares, sugieren que cancelar la producción de ROS inducida por el estiramiento mediante un aumento de la defensa antioxidante disminuye el incremento de fosforilación del NHE1 y consecuentemente el desarrollo de la SFF.

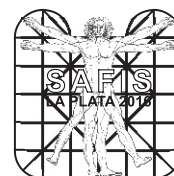
## Gastroenterología

**14. LA INDUCCION DE HEMOXIGENASA 1 PREVIENE LA INJURIA COLESTASICA OXIDATIVA EN LA RATA.** <sup>1</sup>P Ceccatto, <sup>2</sup>CD Ocampo Alzate, <sup>2</sup>SM Arriaga, <sup>2</sup>AC Boaglio, <sup>1</sup>EJ Sánchez Pozzi, <sup>1</sup>AD Mottino, <sup>1</sup>MG Roma, <sup>1</sup>CL Basiglio. <sup>1</sup>Instituto de Fisiología Experimental (IFISE - CONICET), UNR. <sup>2</sup>Area Bioquímica Clínica Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.

Previamente demostramos que concentraciones fisiológicas de bilirrubina previenen la falla secretora biliar inducida por estrés oxidativo (EO) en modelos in vitro. En este trabajo evaluamos el efecto de la inducción de hemoxigenasa 1 (HO1) y el consecuente aumento en los niveles de bilirrubina sobre la injuria colestásica inducida por EO in vivo. Ratas Wistar macho adultas se trataron con hemina (5-20 mg/kg p.c.) y se determinaron las concentraciones de bilirrubina en bilis, la cual se encontró significativamente aumentada para 20 mg/kg p.c. ( $12,6 \pm 2,5$  mg/dl vs  $5,3 \pm 0,6$  mg/dl para el vehículo,  $p < 0,001$ , n = 4); esto coincide con un aumento del 60% en los niveles hepáticos de HO1 ( $p < 0,05$  vs Control, n = 3). La injuria colestásica oxidativa se indujo utilizando el agente pro-oxidante tert-butyl hidroperóxido (tBuOOH, 220-880  $\mu$ mol/kg p.c.) y se monitoreó el flujo biliar, encontrándose que disminuye significativamente a partir de 440  $\mu$ mol/kg p.c. ( $p < 0,05$  vs Control, en todo el período de tiempo estudiado, n = 6). Una vez seleccionadas las dosis de hemina (20 mg/kg p.c.) y de tBuOOH (440  $\mu$ mol/kg p.c.), se estudió el efecto de la inducción de HO1 sobre la colestasis por EO. El flujo biliar, monitoreado entre las 4 y 6 h post-tBuOOH, disminuyó significativamente ( $1,30 \pm 0,03$   $\mu$ l/min/g hígado vs Control  $1,56 \pm 0,01$   $\mu$ l/min/g hígado,  $p < 0,01$ , n = 6) y el pretratamiento con hemina previno completamente esta disminución ( $1,65 \pm 0,04$   $\mu$ l/min/g hígado, n = 6,  $p < 0,01$  vs tBuOOH). El estado redox se evaluó midiendo los niveles de malondialdehído generado, así como de las defensas antioxidantes. Encontramos que tBuOOH provocó un aumento de la lipoperoxidación ( $0,170 \pm 0,022$  UA vs Control  $0,090 \pm 0,005$  UA,  $p < 0,05$ , n = 6), mientras que el pre-tratamiento con hemina previno este incremento ( $0,082 \pm 0,001$  UA,  $p < 0,05$  vs tBuOOH, n = 6). La actividad de catalasa se encontró aumentada en el grupo tBuOOH, y el pretratamiento con hemina previno este aumento ( $p < 0,05$  vs tBuOOH, n = 3). Por el contrario, para la enzima superóxido dismutasa se encontró que tBuOOH disminuyó la actividad y el pretratamiento con hemina previno esta disminución ( $p < 0,05$  vs tBuOOH, n = 3). Concluimos que tBuOOH genera un estado pro-oxidante, y que la inducción de HO1 y la consecuente elevación de bilirrubina protege al hígado de esta injuria oxidativa y previene la colestasis que se origina. Esto contribuiría a limitar la progresión de hepatopatías colestásicas que cursan con EO.

**15. EL COLESTEROL REGULA LA EXPRESIÓN DE LA AQUAPORINA-8 MITOCONDRIAL EN CÉLULAS HEPÁTICAS HUMANAS HUH-7.** M Danielli, AM Capigioni, J Marrone, RA Marinelli. IFISE (CONICET).

La aquaporina-8 mitocondrial (mtAQP8) hepática puede funcionar como una porina facilitando la salida difusiva del peróxido de hidrógeno mitocondrial, el cual ha sido involucrado en la regulación de la colesterogénesis hepática. Debido a que el promotor del gen de la AQP8 posee elementos de respuesta a factores de transcripción SREBP (sterol regulatory element-binding protein) modulados por el colesterol, y que nuestros estudios previos indican que ratas con dieta hipercolesterolémica muestran reducida expresión de la mtAQP8, en este trabajo estudiamos el efecto de alteraciones en el contenido de colesterol sobre la expresión de mtAQP8 en células humanas derivadas de hepatocitos. Células Huh-7 fueron cargadas con colesterol utilizando el complejo metil- $\beta$ -ciclodextrina (m $\beta$ CD):colesterol, y depletadas de colesterol con m $\beta$ CD en ausencia de suero fetal bovino. Los niveles de ARNm fueron medidos por qRT-PCR a las 8 h y la expresión proteica por inmunoblotting a las 24 h. El



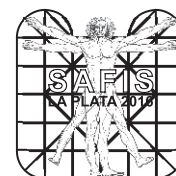
incremento del colesterol celular (hasta un +92%) inhibió la activación proteolítica de los SREBP 1 y 2, y como consecuencia de ello, se redujo significativamente la expresión, a nivel ARNm y proteína, de la enzima clave de la síntesis del colesterol, 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGCR). En estas condiciones, disminuyó significativamente la expresión de mtAQP8, tanto del ARNm (-70%; n=3; P < 0,05) como de la proteína (-64%; n=3; P < 0,05). Por el contrario, una reducción del colesterol celular del  $36 \pm 2\%$  activó la proteólisis de los SREBP 1 y 2, y aumentó la expresión (ARNm y proteína) de la HMGCR. La expresión de mtAQP8 incrementó significativamente a nivel ARNm (+67%; n=3; P < 0,05) y proteína (+62%; n=3; P < 0,05). Los resultados sugieren que la mtAQP8 hepática humana es regulada transcripcionalmente por el colesterol vía SREBPs.

**16. MODULACIÓN DE P-GLICOPROTEÍNA POR EL FITOESTRÓGENO GENISTEÍNA (GNT) EN HÍGADO E INTESTINO DE RATA.** <sup>1</sup>M Semeniuk, <sup>1</sup>LI Ceré, <sup>1</sup>N Ciriaci, <sup>1</sup>GN Tocchetti, <sup>1</sup>VA Catania, <sup>2</sup>JP Rigalli, <sup>1</sup>ML Ruiz. <sup>1</sup>IFISE. <sup>2</sup>Universidad de Heildeberg.

P-glicoproteína (P-gp/ABCB1) es uno de los transportadores ABC de mayor expresión y relevancia funcional en hígado e intestino. Participa en el transporte de una gran variedad de compuestos hidrofóbicos y catiónicos, preferencialmente de origen exógeno, entre ellos drogas de uso terapéutico y sustancias tóxicas, proporcionando un eficiente mecanismo de eliminación y/o una importante barrera contra la penetración de drogas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración de GNT sobre la expresión proteica y los niveles de ARNm de P-gp hepática e intestinal. Para ello, ratas Wistar macho adultas recibieron GNT (5 mg/Kg/día s.c. 3 días consecutivos) y se cuantificaron los niveles proteicos de P-gp por Western blotting en tejido hepático e intestinal. Se observó un aumento de P-gp en tejido hepático, control:  $100 \pm 41\%$  vs GNT:  $186 \pm 29\%$ , n=3 p<0,05. Estos resultados se correlacionaron con un aumento en la expresión de los dos ARNm que codifican para P-gp (Mdr1a: control  $100 \pm 5\%$  vs GNT  $490 \pm 3\%$ , Mdr1b control:  $100 \pm 8\%$  vs GNT  $174 \pm 19\%$ , n=3 p<0,05). Los niveles proteicos de P-gp intestinal se cuantificaron en íleon, porción del intestino donde la expresión de P-gp es mayoritaria. En este tejido no se observaron cambios en la expresión proteica de P-gp, control:  $100 \pm 57\%$  vs GNT  $134 \pm 79\%$ , n=3. Conclusión: La administración de GNT induce P-gp en hígado de rata de manera transcripcional sin producir cambios en intestino. Estos resultados sugieren que GNT podría ejercer un rol citoprotector al aumentar la excreción biliar de xenobióticos, además de afectar la biodisponibilidad de fármacos y por lo tanto su eficiencia terapéutica.

**17. PERFIL ELECTROFORÉTICO DE PROTEÍNAS PRESENTES EN LA SALIVA DE EDÉNTULOS PARCIALES.** <sup>1</sup>GN Gómez, <sup>2</sup>CP Serrano, <sup>3</sup>RP Juárez. <sup>1</sup>LabInPro (FaCENA), IQUIBA-NEA (UNNE-CONICET). <sup>2</sup>Cátedra de Fisiología Humana. <sup>3</sup>Cátedra de Hematología Clínica. Carrera de Bioquímica. FaCENA. UNNE. <sup>3</sup>Asignatura Fisiología Humana. Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste.

El objetivo de este estudio preliminar fue determinar el perfil electroforético de proteínas presentes en la saliva de edéntulos parciales. La población comprende todos los sujetos que acudieron a recibir tratamiento de rehabilitación oral en la Facultad de Odontología de la UNNE, durante el periodo marzo-julio 2016. El tamaño de la muestra fue de 25 pacientes. La técnica de recolección fue la de saliva total no estimulada por drenaje. En cada muestra se determinó la concentración de proteína total (CPT) con el método colorimétrico cuantitativo (Proti U/LCR, control - 2 niveles de Wiener Lab. S.A.I.C.) y el perfil electroforético mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras. Los pesos moleculares (MW) de las proteínas se estimaron por comparación con un patrón comercial (Amersham BioSciences UK Ltd.) que contiene fosforilasa b (97 kDa), albúmina (66 kDa), ovoalbúmina (45 kDa), anhidrasa carbónica (30 kDa), inhibidor de tripsina (20.1 kDa) y lactoalbúmina (14 kDa). Las bandas se calificaron de acuerdo con su tamaño de la banda e intensidad de tinción como: ausente (1), presente (2), y de alta intensidad y tamaño (3) sobre los geles teñidos con azul de Coomassie y nitrato de plata. La CPT fue de  $35.58 \pm 18.11$  mg/dl. En las bandas electroforéticas predominaron las siguientes puntuaciones: (1) en los MW 97, 20 y 14, (2) en MW 45 y 30, (3) en MW 66. Mediante Correlación de Pearson se observaron diferencias significativas entre: MW 66 y MW 97 (p=0.030), MW 66 y MW 45 (p=0.0001), MW 45 y MW 30 (p=0.0001), MW 45 y MW 14 (p=0.041), MW 30 y MW 14 (p=0.0001). Conclusiones parciales: en las muestras analizadas no se observó relación entre la CPT y las bandas electroforéticas con la cantidad de piezas dentarias



ausentes.

Palabras claves: proteínas, saliva, electroforesis, edentulismo.

**18. ELECTROFORESIS DE SALIVA EN ACETATO DE CELULOSA (CELLOGEL) UTILIZANDO LA TÉCNICA DE LIOFILIZACIÓN COMO MÉTODO DE CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS.** <sup>1</sup>CP Serrano, <sup>2</sup>GA Ojeda, <sup>3</sup>RP Juárez. <sup>1</sup>Cátedra de Fisiología Humana. Cátedra de Hematología Clínica. Carrera de Bioquímica. FaCENA. UNNE. <sup>2</sup>Cátedra de Bromatología. Cátedra de Hematología Clínica. Carrera de Bioquímica. FaCENA. UNNE. <sup>3</sup>Asignatura Fisiología Humana. Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste.

El objetivo de este estudio fue explorar la técnica de liofilización como medio de concentración de proteínas totales salivales (CPT) previa a la corrida electroforética. Las concentraciones de proteínas presentes en la saliva son muy bajas, razón por la cual la separación electroforética de las mismas por electroforesis convencional en acetato de celulosa, requiere de un proceso de concentración previo. Existen métodos utilizados de rutina en muestras de orina y líquido cefalorraquídeo. Las muestras fueron sometidas a un procesamiento previo: se procedió a centrifugar la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos, se separó el sobrenadante en tubos de eppendorff, luego se trabajó sobre esta matriz libre de elementos celulares. El sobrenadante se utilizó para realizar la cuantificación de las proteínas totales por el método de pirogalol y liofilizar la muestra para posterior corrida electroforética.

El objetivo de la liofilización es obtener un producto seco, que cuando se le vuelve a añadir agua o disolvente, presente las mismas características que el producto original (forma, color, aroma, sabor y textura). En este trabajo al reconstituir se utiliza menor cantidad de solvente (agua destilada) de modo de lograr una concentración de las proteínas presentes en la saliva. De un volumen original de 1,0 ml de saliva luego de la liofilización se reconstituyen 200 µl. La liofilización asimismo, reduce las pérdidas de calidad debidas al deterioro de la muestra por reacciones químicas y/o por degradación enzimática. Hemos utilizado un liofilizador Marca Christ-Alpha 1-4 LD (Germany), condiciones de trabajo -55 a -60 ° C y a 23 mbar; tinción: Amido Schwartz.

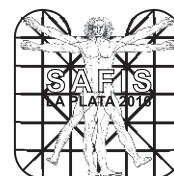
La CPT fue de 36.65 DS 17.78 mg/dl. Al dosar cada fracción por elución se obtuvo albuminas 8,73 DS 6.99 mg/dl y gamaglobulinas 27,99 mg/dl DS 17.43. Es nuestro propósito probar con tinciones más sensibles como la tinción argéntica para tratar de detectar otras fracciones electroforéticas.

Palabras claves: liofilización, electroforesis, proteínas, saliva.

## Endócrino y Reproducción

**19. IMPLICANCIAS DEL FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA (HIF) EN LA REGULACIÓN DE SUSTANCIAS VASOACTIVAS EN LA PLACENTA HUMANA. PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE.** <sup>1</sup>C Aban, <sup>1</sup>T Etcheverry, <sup>2</sup>G Leguizamón, <sup>2</sup>D Trigubo, <sup>1</sup>A Franchi, <sup>3</sup>N Martínez, <sup>1</sup>M Farina. <sup>1</sup>CEFYO-CONICET-UBA. <sup>2</sup>CEMIC. <sup>3</sup>IFIBIO.

La placenta es un órgano transitorio fundamental para el establecimiento y la progresión del embarazo. El tono vascular placentario se encuentra regulado por sustancias vasodilatadoras como la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) y el óxido nítrico (NO); y vasoconstrictoras como los tromboxanos (TXs). Durante el embarazo normal, cantidades equivalentes de PGI<sub>2</sub> y TXs son producidos por la placenta para equilibrar la actividad uterina y el tono vascular útero-placentario. Sin embargo, un ambiente hipóxico característico de condiciones patológicas como la preeclampsia, es uno de los principales desencadenantes del desequilibrio en la producción de estas moléculas vasoactivas. Los endocannabinoides son mediadores lipídicos que también pueden modular la síntesis de NO, así como los niveles de eicosanoides. En el presente trabajo, investigamos el efecto del factor inducible por hipoxia (HIF-1) sobre la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) y la producción de PGI<sub>2</sub> y TXs en la placenta humana, dilucidando la participación de los endocannabinoides. Para ello, se utilizaron fragmentos de vellosidades coriónicas provenientes de mujeres sometidas a cesáreas electivas a término (38-40 semanas de gestación). Los explantos fueron incubados con 100 µM y 250 µM de cloruro de cobalto (CoCl<sub>2</sub>), un agente que estabiliza HIF-1 provocando una hipoxia química. Se evaluó la viabilidad de los explantos (MTT, hCG) bajo las condiciones de cultivo. Observamos que el tratamiento con CoCl<sub>2</sub> incrementa (p<0.01) la actividad de NOS y aumenta la producción de PGI<sub>2</sub>, mientras que disminuye significativamente los niveles de TX liberados al medio de cultivo. Adicionalmente, detectamos que la incubación de los explantos con Meta-AEA, un análogo de endocannabinoide, puede modular la producción de las sustancias vasodilatadoras. El efecto estimulador sobre la actividad de la



NOS y los niveles de PGI2 generados por HIF-1 fueron revertidos cuando los explantos fueron co-incubados con AM251, antagonista del receptor CB1, hecho que sugiere la participación de los endocannabinoides en dicho efecto. En el presente trabajo demostramos que la estabilización de HIF-1 incrementa la producción de sustancias vasodilatadoras mientras que disminuye los niveles de TXs, principal vasoconstrictor placentario, y que los endocannabinoides estarían involucrados en este efecto.

**20. BALANCE ENTRE PROLIFERACIÓN Y APOPTOSIS EN EL HÍGADO DE RATONES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM 1) TRATADOS CON LA DROGA CARCINOGENICA DIETILNITROSAMINA (DEN).** <sup>1</sup>A Arboatti, <sup>2</sup>F Lambertucci, <sup>3</sup>MG Sedlmeier, <sup>4</sup>G Pisani, <sup>5</sup>MC Carrillo, <sup>5</sup>ML Alvarez, <sup>2</sup>D Francés, <sup>2</sup>MT Ronco María Teresa, <sup>2</sup>C Carnovale. <sup>1</sup>Instituto de Fisiología Experimental-CONICET. <sup>2</sup>Fisiología, FBioyF-UNR, Instituto de Fisiología Experimental-CONICET. <sup>3</sup>Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. <sup>4</sup> Cátedra de Morfología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. <sup>5</sup>Morfología, FBioyF-UNR, Instituto de Fisiología Experimental-CONICET.

La DM 1 es una enfermedad autoinmune causada por la destrucción selectiva de las células  $\beta$ -pancreáticas productoras de insulina. El estado diabético produce en el hígado modificaciones que aumentan la sensibilización del mismo a desarrollar HCC. Para establecer la dosis de DEN necesaria para la iniciación del HCC en un modelo murino de DM 1, nos propusimos trabajar con una única dosis intraperitoneal (ip) de DEN estudiando a 4 semanas de tratamiento. Ratones C57BL/6 fueron separados en: Control (C, vehículo), C+DEN (Dosis=75mg/kg pc, ip.), DBT tratados con insulina (DBT+I, droga diabetogénica: Estreptozotocina (ETZ), 200 mg/kg pc, ip más I, 2U/día subcutánea) y DBT+I+DEN animales que reciben ETZ, DEN e I (n=4 c/u). A las 4 semanas de la inyección de DEN, se realizó la eutanasia de los ratones. En cortes de hígado se realizaron estudios histológicos y la cuantificación de hepatocitos en las distintas fases del ciclo celular (inmunohistoquímica de PCNA). El tratamiento con I normalizó glicemia y niveles plasmáticos de fructosaminas en DBT+I y DBT+I+DEN. En el grupo DBT+I+DEN se observó un aumento significativo en hepatocitos en las fases G1, S y M así como en el índice de proliferación con respecto a C ( $p < 0,05$ ). Además, DBT+I+DEN mostró aumento en hepatocitos en fase G1 (+108%#), en fase S (+135%#), en fase M (+183%#), índice de proliferación (IP, hepatocitos en fase G1, S, G2 y M, +68%#) (# $p < 0,05$  vs DBT+I) lo que estaría indicando una promoción en el ciclo celular con un aumento en fase M. No se observaron grupos de hepatocitos basófilos (hematoxilina-eosina) en ninguno de los grupos con DEN. Se evaluaron por Western blot marcadores de la progresión del ciclo celular: ciclina (Cyc) D1, G1 y E1. DBT+I+DEN mostró un aumento en Cyc E (+135%#) que tiene máxima expresión en fase S y Cyc D (+149%#). Estos resultados ponen en evidencia que la dosis de DEN utilizada induce una progresión del ciclo celular hacia la fase M. Con respecto apoptosis, el grupo DBT+I+DEN mostró un aumento en la actividad caspasa 3 (+64%#), la relación Bax/Bcl-xl (+185%#) y Citocromo C (+195%#) (# $p < 0,05$  vs DBT+I) sin cambios en el índice apoptótico (IA). Estos resultados evidencian un desbalance entre proliferación/apoptosis. Proponemos trabajar con una dosis de 75mg/kg pc realizando los estudios a tiempos más prolongados desde el momento de la inyección del DEN, a fin de obtener grupos de hepatocitos alterados o focos preneoplásicos.

**21. LA HIPOXIA/REOXIGENACIÓN INDUCE DAÑO NITROSATIVO Y OXIDATIVO EN EL SINCICIOTROFOBLASTO DE PLACENTA HUMANA.** <sup>1</sup>M Di Paola, <sup>2</sup>N Szpilbarg, <sup>3</sup>MN Sierra, <sup>3</sup>C Anud, <sup>4</sup>B Maskin, <sup>5</sup>N Martínez, <sup>6</sup>M Castro Parodi, <sup>1</sup>AE Damiano. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Lab. de Biología de la Reproducción IFIBIO Houssay-UBA-CONICET. <sup>2</sup>Lab. de Biología de la Reproducción IFIBIO Houssay-UBA-CONICET. <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. <sup>4</sup>Hospital Posadas. <sup>5</sup>Lab. de Biología de la Reproducción IFIBIO Houssay-UBA-CONICET. <sup>6</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Las placentas preeclámpticas se caracterizan por una placentación defectuosa, que lleva a un ambiente placentario relativamente hipóxico, provocando un daño del tipo isquemia-reperfusión sobre el trofoblasto, afectando sus funciones de síntesis y transporte. Estas fluctuaciones en la concentración de oxígeno generan diferentes especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS), que promoverían la formación de peroxinitritos. Éstos producen daños sobre los lípidos, el DNA y las proteínas.

En estudios previos observamos en placentas preeclámpticas, que la expresión de acuaporina-9 (AQP9) aumenta pero no es funcional. Posteriormente, en explantos de placenta normal sometidos a hipoxia seguida de



reoxigenación observamos el mismo resultado, sugiriéndonos que la Hipoxia/Reoxigenación modificaría no solo la expresión, sino la función de esta proteína. Dado que el peroxinitrito puede nitrar residuos de tirosina en las proteínas llevando a una pérdida de función de las mismas, nuestra hipótesis es que la hipoxia/reoxigenación induce un aumento de ROS y RNS, que llevaría a la nitración de la AQP9, impidiendo su correcta degradación (acumulándose en el citoplasma) y haciéndola no funcional.

**Objetivo:** evaluar si la hipoxia/reoxigenación induce aumento de ROS y RNS que lleven a un aumento del perfil de proteínas nitradas, cambios en la expresión de las enzimas antioxidantes y daño celular.

**Metodología:** Se cultivaron explantos de placenta normal en normoxia y en normoxia seguida de reoxigenación. Se estudió la expresión de Catalasa, SOD 1 y proteínas nitradas por la técnica de Western Blot e inmunohistoquímica. Se determinó el daño celular mediante el grado de peroxidación lipídica por la técnica de TBARS. En todos los casos se estudió la expresión de AQP9.

**Resultados:** Se observó que en explantos cultivados en hipoxia/reoxigenación la expresión de catalasa aumentó significativamente, mientras que la expresión de SOD 1 disminuyó. La expresión de proteínas nitradas así como la expresión de AQP9 aumentó significativamente en estas condiciones, observando un patrón similar al reportado en placentas preeclámpticas. Por último, observamos un aumento del grado de peroxidación lipídica en estas condiciones.

**Conclusión:** Estos resultados sugieren que la hipoxia seguida de reoxigenación es la responsable de las alteraciones observadas en las enzimas encargadas de las defensas antioxidantes aumentando las ROS y RNS. Esto no sólo produciría daño celular sino que también induciría a un aumento de la nitración en las proteínas, como la AQP9, promoviendo la acumulación en el citosol de proteínas no funcionales.

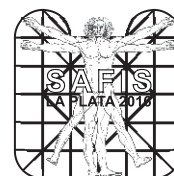
**22. MECANISMOS EPIGENÉTICOS INDUCIDOS POR ESTRÉS OXIDATIVO EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE GRAVES.** <sup>1</sup>R Macri Delbono, <sup>1</sup>M Costilla, <sup>1,2</sup>A Klecha, <sup>3</sup>M Saban, <sup>3</sup>M Curria, <sup>3</sup>M Dicugno, C Asensio, <sup>1,2</sup>G Cremaschi, <sup>1</sup>ML Barreiro Arcos. <sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas - UCA - CONICET. <sup>2</sup>Laboratorio de Radioisótopos-FFyB UBA. <sup>2</sup>Laboratorio de Radioisótopos-FFyB UBA. <sup>3</sup>Servicio de Endocrinología-Hospital Británico.

La patología de Graves es una enfermedad autoinmune caracterizada por una hiperreactividad humoral contra autoantígenos tiroideos que conduce al estado de hipertiroidismo en los individuos que la padecen. El objetivo de este trabajo es estudiar la presencia de mecanismos epigenéticos en células mononucleares (MN) de sangre periférica de pacientes con Enfermedad de Graves, y analizar la participación del estrés oxidativo en la inducción de los mismos. Para ello, las células MN de pacientes con Enfermedad de Graves (n=8 individuos) y de controles sanos (n=10 individuos) fueron purificadas a partir de sangre periférica mediante Ficoll-Hypaque y en las mismas se analizó los niveles de especies oxidantes, enzimas antioxidantes, la expresión de DNMT y las modificaciones en las histonas. Hemos observado un incremento significativo de las especies reactivas del oxígeno (EROs) en las células MN de los pacientes Graves respecto de los individuos sanos (% de incremento: 18.3 ± 2.5, p0.005) que se correlacionó con el aumento en la actividad y en la expresión genómica de las enzimas Catalasa y Glutatión Peroxidasa-1. La expresión genómica y proteica de la enzima ADN-metiltransferasa DNMT, responsable de la metilación del ADN, se encontró aumentada en un 40 % en los pacientes Graves, así como también el grado de hipoacetilación de las histonas.

metilación del ADN, se encontró aumentada en un 40 % en los pacientes Graves, así como también el grado de hipoacetilación de las histonas.

Estos resultados nos permiten inferir que el estrés oxidativo podría inducir cambios epigenéticos tales como la metilación del ADN y la hipoacetilación de las histonas, lo que podría afectar la transcripción de genes inmunoreguladores en células linfocitarias, involucrados en el control de la respuesta inmune, contribuyendo así al fenómeno de autoinmunidad y a la patogenia de la enfermedad de Graves.

**23. ALTERACIONES EN LA FOLICULOGÉNESIS INDUCIDAS POR LA EXPOSICIÓN TEMPRANA A BISFENOL A EN RATAS ADULTAS.** <sup>1</sup>F Plenkovic, <sup>1</sup>N Contrera Rolón, <sup>1</sup>V Canzani, <sup>2</sup>A Seyhian, <sup>1</sup>PA Scacchi Bernasconi, <sup>1</sup>O Ponzio, <sup>1</sup>R Reynoso. <sup>1</sup>Lab.Endocrinología, II Cátedra de Fisiología, Fac. de Medicina, UBA. <sup>2</sup>Lab. Fisiopatogenia, Fac. de Medicina, UBA. IFIBIO Houssay.CONICET.



El bisfenol A (BPA) es uno de los disruptores endocrinos de mayor producción en la industria, utilizado en la fabricación de plásticos policarbonato, presentes en envases plásticos, en resinas epoxi, selladores dentales, papel térmico, entre otros elementos de uso cotidiano. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del BPA sobre la foliculogénesis en ratas adultas expuestas durante la gestación y la lactancia. Se administró BPA en el agua de bebida en una dosis aproximada de exposición de 0.025 y 2.5 mg/kg/día a ratas madre y etanol 0.1% al grupo control. Las crías hembra fueron separadas de la madre a los 21 días de vida y sacrificadas a los 60 días de vida. Se evaluó peso corporal y el peso de ovarios. Se estudió el ciclo estral y se realizó estudio histológico de cortes de tejido ovárico. El análisis estadístico se realizó por ANOVA de una vía y test de Tukey. El peso corporal (grs) se incrementó con la exposición a ambas dosis (C:  $293 \pm 4.4$ , BPA0.025:  $377 \pm 12$ , BPA2.5:  $383 \pm 9$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ). No se observaron cambios significativos en peso absoluto y relativo de ovarios. El estudio del ciclo estral mostró que los animales tratados con la dosis baja y alta presentaban periodos prolongados en diestro, y ciclos regulares en el 25% y 20% de los casos, respectivamente. Se realizó conteo de folículos en crecimiento, el mismo disminuyó significativamente en los animales expuestos a ambas dosis de BPA (C:  $5.7 \pm 0.4$ , BPA0.025:  $2.57 \pm 0.4$ , BPA2.5:  $4.3 \pm 0.18$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). El conteo detallado de folículos mostró, un aumento del número de folículos primordiales con dosis baja y sin cambios con dosis alta (C:  $2.4 \pm 1.1$  vs. BPA0.025:  $4 \pm 1.3$ ;  $p < 0.5$ ), el conteo de los folículos primarios no mostraron cambios significativos con ninguna dosis. Secundarios y antrales mostraron disminución significativa con ambas dosis, (C:  $2.8 \pm 1.5$ , BPA:  $0.025: 1.5 \pm 0.5$ , BPA2.5:  $1.7 \pm 1.0$ ;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), (C:  $1.9 \pm 0.3$ , BPA0.025:  $1.1 \pm 0.3$ , BPA2.5:  $1.2 \pm 0.4$ ;  $p < 0.05$ ), al igual que los cuerpos lúteos, (C:  $6 \pm 1.7$ , BPA0.025:  $3.8 \pm 1.4$ , BPA2.5:  $4.1 \pm 1.8$ ;  $p < 0.01$ ). El número de folículos atrésicos se incrementó con ambas dosis (C:  $1.6 \pm 0.7$ , BPA0.025:  $4.5 \pm 1.2$ , BPA2.5:  $4.0 \pm 1.4$ ;  $p < 0.001$ ). Se observaron múltiples quistes en ovarios de animales expuestos a las dos dosis (C:  $1.1 \pm 0.1$ , BPA0.025:  $1.9 \pm 0.2$ , BPA2.5:  $2 \pm 0.1$ ;  $p < 0.05$ ). Se observó la presencia de células de granulosa en la cavidad de los quistes y aumento de células intersticiales en el estroma ovárico. Los resultados obtenidos sugieren que la exposición a BPA altera la foliculogénesis, provocando un mayor reclutamiento de folículos primordiales y anomalías en los últimos estadios de la misma.

#### **24. LA TENSIÓN DE OXÍGENO REGULA LA EXPRESIÓN DE AQP4 EN PLACENTA HUMANA. N Szpilbarg, M Di Paola, A Sehayian, J Reppetti, N Martínez, A Damiano. IFIBIO Houssay-UBA-CONICET.**

El oxígeno es un regulador clave del desarrollo y la función placentaria. La hipoxia en las primeras semanas es esencial para el desarrollo embrionario y de la placenta hasta que, luego de las 10-12 semanas de gestación, la tensión de O<sub>2</sub> se incrementa. El factor inducible por hipoxia 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) juega un rol fundamental en la adaptación del trofoblasto a estos cambios. En patologías como la preeclampsia, una modificación anormal de las arterias espiraladas, lleva a fluctuaciones en la tensión de O<sub>2</sub> que resultan en un daño por isquemia/reperfusión (hipoxia/reoxigenación [H/R]), lo que lleva a alteraciones en la expresión de muchos transportadores presentes en sinciotrofoblasto, como es el caso de las acuaporinas (AQPs).

Previamente, informamos que en placentas preeclámpticas, hay un aumento en la expresión de AQP9, mientras que la AQP3 y la AQP4 se encuentran reducidas. A su vez, observamos cambios en la localización de estos transportadores en el sinciotrofoblasto.

En estudios posteriores, en explantos cultivados en normoxia, hipoxia y H/R, demostramos que los cambios en la tensión de oxígeno modulan a la AQP3 y AQP9, provocando las mismas alteraciones descritas en placentas preeclámpticas.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la modulación de AQP4 por O<sub>2</sub> en explantos cultivados en las distintas condiciones de oxigenación.

Se analizó la expresión proteica por Western blot y la localización por inmunohistoquímica e inmunofluorescencia. Adicionalmente, analizamos el promotor de AQP4 para identificar posibles sitios de unión de HIF-1 $\alpha$ .

El tratamiento por hipoxia mostró un incremento de 1,6 veces en la expresión de AQP4, mientras que, luego de la reoxigenación, la expresión de AQP4 disminuyó significativamente acercándose a niveles basales.

Los ensayos de localización mostraron que en normoxia la AQP4 está presente en membrana apical del sinciotrofoblasto y en las células endoteliales. La marca aumentó en hipoxia, mientras que disminuyó en H/R. Ninguno de los tratamientos alteró su localización.

El análisis del promotor mostró la presencia 6 sitios putativos que poseen la secuencia de unión de HIF-1 $\alpha$  (CGTG). Estos resultados sugieren que la expresión de AQP4 placentaria está regulada por cambios en la tensión de oxígeno posiblemente por un mecanismo dependiente de HIF-1. Así, las alteraciones observadas en la expresión



de AQP4 en placentas preeclámpticas podrían deberse a las alteraciones en la tensión de O<sub>2</sub> que sufren estas placentas.

**25. EL ESTRÉS HIPEROSMOLAR ALTERA LA PROLIFERACIÓN Y LA MIGRACIÓN DE CÉLULAS DE TROFOBLASTO DE PRIMER TRIMESTRE: ROL DE TRPV-1.** J Reppetti, A Seyahian, N Beltramone, N Szpilbarg, M Farina, AE Damiano, N Martínez. Lab. de Biología de la Reproducción IFIBIO-CONICET.

El correcto desarrollo placentario requiere que los procesos de proliferación, diferenciación y apoptosis del trofoblasto estén finamente regulados. Durante la placentación una subpoblación de células del trofoblasto (trofoblasto extraveloso – EVT) se diferencia y adquiere características migratorias e invasivas.

Los receptores de potencial transiente de tipo 1 (TRPV-1) son canales no selectivos de cationes que median principalmente el flujo intracelular de calcio. Estos receptores son sensibles a diversos estímulos como cambios en el pH, la temperatura y la osmolaridad. Recientemente, TRPV-1 ha sido reportado en placenta humana a término, demostrándose su participación en la regulación de la apoptosis placentaria. Nosotros demostramos su expresión anormal en placenta preeclámptica, y en estudios preliminares observamos la expresión de TRPV-1 en células Swan 71 donde evidenciamos que el estrés hiperosmolar incrementa la expresión de este receptor e induce la muerte de las células, proceso que se revierte al bloquear TRPV-1.

**Objetivos:** Evaluar el efecto del estrés hiperosmolar en los procesos de proliferación y migración en células de trofoblasto de primer trimestre Swan71 y analizar el rol de TRPV-1 en dichos procesos.

**Metodología:** Utilizamos la línea celular de citotrofoblasto humano de primer trimestre Swan71 que presenta características de EVT. Las células fueron cultivadas en condiciones de isoosmolaridad e hiperosmolaridad, en presencia o ausencia de capzasepina (CPZ - inhibidor de TRPV-1), y posteriormente se evaluaron la proliferación celular por medio del ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) y diversos parámetros apoptóticos como la fragmentación del ADN por la técnica de "laddering", el ensayo de Túnel y la expresión de Bax por Western blot. También se determinó la capacidad migratoria de las células a través del ensayo de cierre de herida.

**Resultados:** Al cultivar las células Swan71 en condiciones de hiperosmolaridad evidenciamos una disminución significativa de la proliferación celular ( $p < 0.01$ ) y un aumento de los índices apoptóticos evaluados ( $p < 0.05$ ): la fragmentación de ADN, el número de núcleos apoptóticos y la expresión proteica de Bax. Todos estos efectos revirtieron al incubar a las células en las condiciones descriptas en presencia de CPZ.

En hiperosmolaridad la migración de las células Swan 71 se vio significativamente disminuida ( $p < 0.001$ ) y dicho efecto se revirtió parcialmente en presencia de CPZ.

**Conclusiones:** Podemos concluir que variaciones de la osmolaridad del espacio extracelular alteran la proliferación y la capacidad migratoria de células de trofoblasto de primer trimestre, posiblemente por activación de las vías de muerte celular programada en las cuales participaría TRPV-1.

## Neurofisiología

**26. EFECTO DE LA TAURINA, UN COMPONENTE DE LAS BEBIDAS ENERGIZANTES, SOBRE LA FUNCIÓN MOTORA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE RESACA ALCOHÓLICA.** <sup>1</sup>S Carbone, <sup>2</sup>A Karadayián, <sup>2</sup>A Czerniczyniec, <sup>2</sup>S Lores-Arnaiz, <sup>2</sup>RA Cutrera. <sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, UBA. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL) UBA-CONICET. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Buenos Aires, Argentina.

Taurina (TAU) es un aminoácido que interviene en diferentes funciones fisiológicas, metabólicas y neurológicas, postulándola como agente antioxidante. TAU es uno de los componentes principales de las bebidas energizantes (BE). Últimamente, la mezcla de bebidas alcohólicas y BE es una práctica muy común con el objeto de atenuar los efectos del consumo excesivo de alcohol (OH) que conduce a la resaca alcohólica. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de TAU sobre la coordinación y tensión neuromuscular en un modelo experimental de resaca alcohólica en ratón. La coordinación neuromuscular y la tensión muscular fueron evaluadas usando la prueba de cuerda tirante (tight rope) y la prueba de agarre a una superficie invertida (hanging wire), respectivamente. Ratones machos adultos (cepa Swiss; n=48) mantenidos en un fotoperíodo 12:12 LO (apagado de luces a las 7pm; ZT 12),



recibieron los siguientes tratamientos: OH (3.8 mg/kg, i.p.); taurina (190 mg/kg, i.p.) y sus respectivos controles con salina (SAL). Se conformaron los grupos: SAL+SAL; SAL+OH; TAU+SAL; TAU+OH. Las inyecciones se hicieron a las 8 am (ZT1) y las pruebas comportamentales en los siguientes horarios: ZT 0 (7 am, basal); ZT 7 (2 pm; comienzo de la resaca alcohólica); ZT 13 (8 pm); ZT 17 (0 am); ZT 21 (4 am). En la prueba de cuerda tirante, el grupo TAU+OH mejoró su performance motora comparado con SAL+OH en el mismo ZT, a partir de ZT 13 (score  $18 \pm 2$ ), alcanzó una diferencia significativa a ZT 17 (score  $2.9 \pm 1.5$  vs  $11.5 \pm 3.5$ ,  $p < 0.05$ ) y la mantuvo hasta ZT 21 (score  $1.3 \pm 0.2$  vs  $10 \pm 3.7$ ,  $p < 0.05$ ). En la prueba de agarre, el grupo TAU+OH mejoró significativamente la performance respecto a SAL+OH, desde el comienzo de la resaca alcohólica a ZT 7 ( $9 \pm 2.4$  vs  $1.7 \pm 0.9$ ,  $p < 0.001$ ) y hasta ZT 13 ( $26.6 \pm 8.9$  vs  $5.2 \pm 1.1$ ,  $p < 0.01$ ). Taurina mejoró significativamente la performance motora pero su efecto fue singularmente significativo en la prueba del agarre, que determina la tensión muscular, ya que se observaron diferencias entre OH+SAL y OH+TAU desde el comienzo de la resaca alcohólica (ZT 7). Estos resultados sugieren que TAU actúa de manera más rápida sobre la tensión muscular comparado con la coordinación motora en las presentes condiciones experimentales. Esto plantea un interrogante sobre su influencia en la resaca alcohólica. Serán necesarios más estudios a fin de elucidar esta aparente diferencia en la velocidad de acción y los posibles mecanismos de acción involucrados.

## **Fisiología Celular 1**

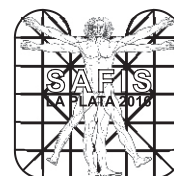
**27. PARTICIPACIÓN DE AKAP350, EB1 Y P150GLUED EN EL MANTENIMIENTO DE LA POLARIDAD EPITELIAL.** <sup>1</sup>E Almada, <sup>1</sup>F Tonucci, <sup>1</sup>AC Ferretti, <sup>1</sup>F Hidalgo, <sup>2</sup>R Vena, <sup>1</sup>C Favre, <sup>1</sup>MC Larocca. <sup>1</sup>IFISE-CONICET, UNR. <sup>2</sup>IBR-CONICET.

Las estructuras epiteliales se caracterizan por la coordinación entre la polaridad apico-basolateral de cada célula con la de sus células vecinas, que garantiza la formación de único lumen. El mantenimiento de esta polaridad simple es asegurado por el posicionamiento del huso mitótico en dirección paralela a la luz epitelial, de modo que las células hijas permanezcan en la misma lámina, lo cual depende de los microtúbulos. Las células epiteliales MDCK, derivadas de túbulos renales, generan estructuras organotípicas (quistes) con una luz central que mimetiza la luz tubular. AKAP350 es una proteína de "andamiaje", que integra proteínas de señalización en el aparato de Golgi y en los centrosomas, participando en la organización del citoesqueleto de microtúbulos. Previamente demostramos que las células con disminución en la expresión de AKAP350 por RNA de interferencia (AKAP350KD) forman quistes con más de un lumen. Nos propusimos determinar el mecanismo por el cual AKAP350 participa en la formación de estructuras epiteliales con polaridad simple. Determinamos que la disminución en la expresión de AKAP350 induce una alteración en la dirección del huso mitótico respecto a la luz tubular (control (C):  $82 \pm 2$ ; AKAP350KD:  $40 \pm 10$ ). Los centrosomas constituyen los polos del huso mitótico. Estudiamos el efecto del desplazamiento de AKAP350 de centrosomas, mediante la expresión de su dominio de localización centrosomal (PACT). Los quistes formados mostraron fenotipos similares a los de AKAP350KD (C:  $(80 \pm 10)\%$  simples,  $(20 \pm 10)\%$  complejos; PACT:  $(27 \pm 5)\%$  simples,  $(70 \pm 10)\%$  complejos), indicando que la AKAP350 centrosomal es necesaria para la polaridad epitelial simple. A través de su dominio amino terminal (NTD), AKAP350 interacciona con p150glued, componente de dinactina que interacciona con la proteína de unión a los extremos (+) de microtúbulos EB1. p150glued y EB1 modulan el posicionamiento del huso mitótico. Evaluamos el fenotipo los quistes formados a partir de células que sobreexpresan AKAP350 NTD, y observamos un aumento significativo en la formación de quistes complejos ( $+46\%*$ ). Asimismo, analizamos la localización centrosomal de p150glued y EB1 en condiciones que favorecen la remodelación de los microtúbulos, tal como la formación del huso mitótico, en las células AKAP350 NTD y PACT, y, en ambos grupos, la encontramos significativamente disminuida (p150glued: AKAP350 NTD  $-13\%*$ ; PACT  $-60\%*$ ; EB1: AKAP350 NTD  $-45\%*$ ; PACT  $-40\%*$ ). Concluimos que AKAP350 asegura el correcto posicionamiento del huso mitótico durante la formación de estructuras epiteliales simples, mediante el reclutamiento de EB1 y p150glued a centrosomas.  $*p < 0.05$

**28. EFECTOS DEL EXCESO DE HORMONAS TIROIDEAS SOBRE LA DIFERENCIACIÓN NEURO-GLIO-VASCULAR DURANTE LA REGENERACIÓN RETINIANA DE ZEBRAFISH ADULTO.** CA Bejarano, MP Faillace. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay. UBA-CONICET.

Las hormonas tiroideas (TH) juegan un rol clave en los procesos de proliferación, diferenciación, migración, sinaptogénesis y mielinización en el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) en los vertebrados. Las TH





ejercen sus efectos biológicos a través de los receptores nucleares de TH (TRs). Asimismo, se ha descrito que alteraciones de la interacción funcional entre neuronas, células de la glía y vasos sanguíneos, subyacen a diferentes patologías del SNC, incluyendo patologías retinianas. El zebrafish adulto (ZF) es capaz de regenerar varios tejidos y órganos, siendo un modelo adecuado para estudiar la regulación de la génesis y diferenciación celular.

Nos propusimos examinar el efecto de desequilibrios en la señalización tiroidea sobre la reparación del circuito neuro-glio-vascular durante la regeneración de la retina en el ZF.

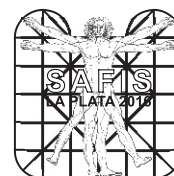
Se lesionaron las retinas de un grupo de ZF con una inyección intravítrea de Ouabaína y el grupo control con solución salina. A su vez, se separaron los animales en cuatro grupos, se trataron con TH (300µg/L) o con vehículo (NaOH 0.1 M) en el agua de la pecera hasta los 8 ó 25 días post lesión (dpi), cuando se procedió a la eutanasia. Los grupos de 8 dpi recibieron un pulso de bromodeoxiuridina (BrdU) de 24h, para marcar células en la fase S del ciclo celular. Se realizó inmunofluorescencia simple y doble para detectar diferentes poblaciones celulares y vascularización sobre el tejido retiniano. Se detectaron los niveles de ARNm de los TRs, receptores para VEGF (VEGFRs) y marcadores de tipos celulares en la retina, mediante la técnica de RT-PCR estándar y cuantitativa.

Se observaron incrementos significativos de células inmunorreactivas para BrdU en los grupos tratados con TH a los 8 dpi (correspondiente al pico de proliferación celular luego de la lesión con Ouabaína). En el tratamiento a largo plazo con una elevada concentración de TH (25 dpi), se observó neovascularización retiniana. El análisis histológico y de inmunomarcación de poblaciones celulares y capas demostró cambios significativos en el número de células, así como en las dimensiones de las capas y conexiones sinápticas. Se describieron variaciones significativas en la expresión del ARNm de TR, VEGFRs y marcadores celulares retinianos que correlacionan con los cambios morfológicos observados con los distintos tratamientos. Finalmente, proponemos que los cambios observados en las retinas lesionadas y tratadas con un exceso de TH, a largo plazo, representa un modelo de degeneración y neovascularización generado por un desbalance de la señalización tiroidea.

**29. REGULACIÓN DINÁMICA DE ATP EXTRACELULAR EN ESCHERICHIA COLI.** <sup>1</sup>CL Alvarez, <sup>1,2</sup>G Corradi, <sup>1</sup>N Lauri, <sup>3,4</sup> Marginedas Freixa, <sup>1,5</sup>MF Leal Denis, <sup>6</sup>N Enrique, <sup>7</sup>SM Mate, <sup>6</sup>V Milesi, <sup>3,4</sup>MA Ostuni, <sup>7</sup>V Herlax, <sup>1,2</sup>P Schwarzbaum. <sup>1</sup>IQUIFIB-CONICET/UBA. Junín 956. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Biológica. Cátedra de Química Biológica. <sup>3</sup>INSERM. UMR\_S1134. 6, rue Alexandre Cabanel. Paris, Francia. <sup>4</sup>Université Paris Diderot, Paris 7. Paris, Francia. <sup>5</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Analítica y Fisicoquímica. Cátedra de Química Analítica. Buenos Aires, Argentina. <sup>6</sup>IIFP-CONICET/UNLP. Calle 115 y 47. La Plata, Argentina. UNLP. Exactas. Cátedra de Fisiología. La Plata, Argentina. <sup>7</sup>INIBIOLP-CONICET/UNLP. Calle 60 y 120. La Plata, Argentina. UNLP. MED. La Plata, Argentina.

Estudiamos la regulación dinámica de ATP extracelular (ATPe) en *Escherichia coli*, que depende de la liberación de ATP y de la hidrólisis de ATPe (actividad ATPasa). Utilizamos distintos contextos: *E. coli* aisladas, vesículas de membrana externa (OMVs) purificadas de *E. coli*, *E. coli* co-incubadas con células intestinales Caco-2 y *E. coli* en perfusiones de segmentos intestinales de rata (SI). La [ATPe] fue monitoreada de manera continua por luminometría. La actividad ATPasa fue estimada por luminometría y por un método radioactivo. En *E. coli* y OMVs, la liberación de ATP fue inducida por exposición a los péptidos melitina (MEL) y mastoparan 7 (MST7), mientras que en Caco-2 y SI, la liberación de ATP fue inducida por agregado de *E. coli*. En *E. coli* y OMVs, la actividad ATPasa aumentó linealmente con [ATPe] (0.1-1 µM). Además, la actividad ATPasa de *E. coli* aumentó 3.6 veces en medios sin fosfato, y se redujo 60% en presencia de AMP-CPP, un análogo no hidrolizable de ATP. En OMVs y en *E. coli*, la [ATPe] se mantuvo estable en ausencia de estímulo y aumentó de manera aguda 3 y 7 veces con el agregado de MST7 y MEL, respectivamente. En células Caco-2, el agregado de *E. coli* indujo un aumento de [ATPe] hasta un máximo, seguido de una rápida disminución, lo que sugiere una alta actividad hidrolítica de ATPe. La incubación con carbenoxolona (inhibidor de la salida de ATP) disminuyó 80% la [ATPe] inducida por *E. coli*. En SI, la perfusión de *E. coli* provocó un aumento del doble en la [ATP] del lumen, respecto a sus niveles basales. En resumen, la regulación de ATPe en *E. coli* depende del balance dinámico entre la actividad ATPasa y la liberación de ATP al medio extracelular. Ese balance podría ser alterado por las OMVs, ya que éstas poseen su propia capacidad de regular ATPe. Además, *E. coli* es capaz de inducir liberación de ATP tanto en las células Caco-2 como en SI. Los resultados sugieren un importante papel de *E. coli* en la regulación de ATPe del lumen intestinal in vivo.

Con subsidios UBACYT (20020130100027BA), PICT 2014-0327, CONICET (PIP 20110100639 Y 11220150100459) y ECOS Sud (Francia)-MINCYT(Argentina) A15S01, PDS-CIN 193.



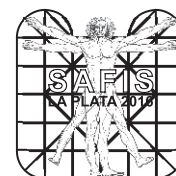
**30. PROLIFERACIÓN DEPENDIENTE DE ACUAPORINA 2 (AQP2) EN UN MODELO DE CÉLULAS PRINCIPALES DE TÚBULO COLECTOR CORTICAL RENAL: LAS mpkCCDc14.** G Di Giusto, MJ Christensen, A Pizzoni, P Ford, C Capurro, V Rivarola. Laboratorio de Biomembranas- IFIBIO-HOUSSAY – Facultad de Medicina, UBA.

Nuestros estudios previos, utilizando como modelos experimentales dos líneas celulares de túbulo colector cortical renal (RCCD1) – una transfectada expresando establemente la AQP2 en la membrana apical y otra que no mostraron que la presencia de AQP2 inducía una aceleración del ciclo celular mediada en parte por un aumento de los mecanismos RVI (Regulatory Volume Increase) dependientes de la isoforma 2 del intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (NHE2). El objetivo de este trabajo fue corroborar estos resultados en un modelo más fisiológico de células principales de colector cortical: las mpkCCDc14, que expresan endógenamente la AQP2. Para ello realizamos experimentos de inmunoblot para la AQP2 y NHE2, conteo celular por cámara de Neubauer y medición de RVI mediante el Scepter Cell Counter. Trabajos previos mostraron que las mpkCCDc14 expresan AQP2 al ser estimuladas durante 24hs por AVP sobre un soporte permeable pero no en uno impermeable (Hasler et al 2002). Nuestros estudios muestran que la AVP 10nM y el dbAMPc 100uM son capaces de aumentar la expresión de AQP2 en estas células crecidas sobre soporte impermeable al ser estimuladas durante al menos 4 días. La proliferación de las células inducidas por AVP o dbAMPc se encuentra aumentada (Número de células, 104: control= 3.3±0.4, AVP= 6.2±0.3 p<0.01 n=20; dbAMPc= 5.1±0.6 p<0.05 n=30). Por otra parte observamos que las células inducidas con dbAMPc expresan una mayor cantidad de NHE2 en membranas plasmáticas biotinizadas (NHE2/Estreptavidina, unidades arbitrarias: control= 0.88±0.07 vs dbAMPc= 1.50±0.15, p<0.05 n=6). Solo la proliferación de las células mpkCCDc14 inducidas es sensible a la inhibición de NHE2 por HOE-694 15µM (Número de células 104: +NHE2= 5.1±0.6 vs -NHE2= 3.2±0.5, p<0.05 n=30). Nuestros experimentos de volumen mostraron que el porcentaje de RVI en respuesta a un shock hiperosmótico de las células mpkCCDc14 inducidas, pero no el de las control, aumenta durante la fase S del ciclo celular (%RVI con dbAMPc: Fase G1= 1.33±1.33 vs Fase S= 15.33±2.90, p<0.05 n=6). Finalmente, observamos que en las células inducidas el % de RVI de la fase S era sensible a la inhibición del NHE2 (%RVI con dbAMPc: +NHE2= 11.67±2.33 vs -NHE2= 0±0.0, p<0.01 n=6). En conjunto los resultados corroboran en un modelo fisiológico más cercano a lo que ocurre en los túbulos colectores renales nativos que la AQP2 induce un aumento de la proliferación a través la activación de mecanismos de RVI dependientes de NHE2.

**31. SALIDA DE ATP EN ERITROCITOS HUMANOS FRENTE A PÉPTIDOS DE INTERÉS FISIOLÓGICO Y FISIOPATOLÓGICO.**<sup>1</sup>LZF Gross\*, <sup>1</sup>S Venerus Arbilla\*, <sup>1</sup>N Lauri, <sup>1</sup>CI Álvarez, <sup>1</sup>L Nievez, <sup>1,2</sup>PJ Schwarzbaum, <sup>1,3</sup>MF Leal Denis. <sup>1</sup>IQUIFIB-CONICET/UBA. Junín 956. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Biológica. Cátedra de Química Biológica Superior. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Analítica y Físicoquímica. Cátedra de Química Analítica. Buenos Aires, Argentina. \* Comparten primera autoría.

Los eritrocitos humanos (h-RBCs) liberan ATP al medio extracelular en respuesta a una variedad de estímulos fisiológicos y patológicos. El ATP extracelular (ATPe) resultante puede ser hidrolizado por una o varias ectonucleotidasas, lo que resulta en una cinética de acumulación de ATPe. Analizamos esta cinética de ATPe en h-RBCs expuestos a potenciales inductores de la salida de ATP, como el fragmento 1-40 del péptido β-amiloide (Aβ40), la melitina (MEL) y el mastoparén 7 (MST7). Dado que la adhesión a sustratos puede modular la salida de ATP de h-RBCs, los experimentos se realizaron tanto en células no adheridas como en células adheridas a poli-D-lisina. Además, se monitoreó el grado de hemólisis para evaluar el componente lítico de la salida de ATP. En h-RBCs adheridos, la exposición a 1,56 µg/ml de Aβ40 (similar a concentraciones plasmáticas) incrementó la [ATPe] de 1,3 ± 0,7 a 2,8 ± 0,5 pmol/106 células, mientras que con MST7 el aumento fue de 1,9 ± 0,4 a 5,6 ± 0,1 pmol/106 células. En h-RBCs sin adherir Aβ40 y MST7 no indujeron cambios en la [ATPe]; sin embargo, cuando el péptido Aβ40 fue envejecido 72 hs a 37 °C, lo que induce la formación de oligómeros, se observó un incremento agudo de 17% de la [ATPe], alcanzándose un máximo de 0,32 pmol/106 células. Este aumento correlacionó en gran medida con un incremento de la hemólisis. Por otro lado, frente a MEL se observó un incremento en la [ATPe] dosis-dependiente, con niveles crecientes de hemólisis. Los resultados sugieren que, en GR la adhesión celular es un pre-estímulo necesario para inducir la salida no lítica de ATP por MST7 y Aβ40. Alternativamente, en ausencia de adhesión, se evidencia salida lítica de ATP a altas concentraciones de MEL y con Aβ40 envejecido. Estas condiciones son compatibles con la formación de poros citotóxicos.

Con subsidios UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187 y PIP 639) y ANPCyT (2014-0327), PDS-CIN 193.



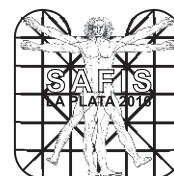
**32. REGULACIÓN DINÁMICA DEL VOLUMEN CELULAR Y DEL ATP EXTRACELULAR EN ERITROCITOS HUMANOS.**<sup>1,2</sup>MF Leal Denis, <sup>1</sup>N Lauri, <sup>1</sup>CI Álvarez, <sup>1,3</sup>PJ Schwarzbaum. <sup>1</sup>IQUIFIB-CONICET/UBA. Junín 956. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Analítica y Físicoquímica. Cátedra de Química Analítica. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Biológica. Cátedra de Química Biológica Superior. Buenos Aires, Argentina.

El péptido mastoparín 7 (MST7) induce la salida de ATP en eritrocitos humanos y un aumento del volumen celular (Vr). Se sabe que el aumento de Vr (swelling) es un inductor de la salida de ATP y que el ATP extracelular (ATPe), activando receptores P (de nucleótidos purínicos y pirimidínicos), puede afectar el Vr. Entonces, analizamos la regulación dinámica y recíproca entre Vr y ATPe en eritrocitos humanos. Para ello se expusieron los eritrocitos a MST7, y se estudiaron las cinéticas de Vr y de concentración de ATPe ([ATPe]), en presencia de moduladores de la salida de ATP, de Vr y de receptores P. Los resultados muestran que en eritrocitos humanos el MST7 promueve un aumento agudo en la [ATPe] y en Vr, fuertemente correlacionados. Mientras el MST7 induce un aumento de 10% en Vr y de 190 nM en la [ATPe], el bloqueo del swelling con MST7 en medio hiperosmótico redujo la [ATPe] en un 40%. El pre-tratamiento de las células con carbenoxolona o probenecid (bloqueantes de panexina 1, vía de salida de ATP) redujo la [ATPe] en un 40-50% y el swelling un 40-60%, mientras que el tratamiento con apirasa (removedor de ATPe) bloqueó el swelling. Entonces se postuló que el ATPe afecta el Vr al activar receptores P2X que median la entrada neta de sodio a las células, induciendo un aumento de la osmolaridad intracelular. Efectivamente, en células expuestas a MST7, 1- la pre-incubación con NF110, inhibidor de receptores P2X que median la entrada de sodio, redujo un 48% la [ATPe] y un 80% el swelling; 2- el reemplazo del sodio por cloruro de colina en el medio de ensayo redujo un 92% el swelling; 3- el contenido intracelular de sodio aumentó un 60%. Los resultados sugieren que la exposición MST7 induce la salida de ATP por dos vías, una de las cuales sería la panexina 1. El ATPe acumulado activa receptores P2X, que permiten la entrada de sodio, llevando a un aumento de Vr que a su vez activa la salida de ATP. Por lo tanto el swelling y los receptores P2X constituyen componentes esenciales de un circuito de retroalimentación positiva que media la liberación de ATP inducida por ATPe de eritrocitos humanos. Con subsidios UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187 y PIP 639) y ANPCyT (2014-0327), PDTs-CIN 193.

## Sangre e Inmunidad

**59. EFECTOS DEL ESTRÉS CRÓNICO SOBRE EL ESTADO OXIDATIVO Y LA FUNCIONALIDAD ERITROCITARIA EN RATAS VIEJAS.** M Onoriaga, S Binotti, H Scoppa, A Stagnoli, M Farías, N Bensi, A Niebylski. UNRC

Aumentos en el estado redox tisular y eritrocitario han sido descritos en respuesta a situaciones de estrés agudo o crónico. Los cambios oxidativos en el eritrocito podrían causar daños en la membrana y en el citoesqueleto disminuyendo su deformabilidad, modificando la agregabilidad y la microcirculación. Alteraciones en la fluidez sanguínea y un incremento del estado oxidativo son frecuentes durante el envejecimiento. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos del estrés crónico sobre el estado oxidativo y la funcionalidad del eritrocito en ratas viejas. Se utilizaron ratas Wistar macho de 12 meses de edad divididas en dos grupos control y estrés por restricción de movimientos en cepo 1h/día/3 veces por semana durante 45 días (RM). Luego de la última RM se obtuvo sangre por decapitación, se realizó el hemograma y se midió la viscosidad sanguínea y plasmática, el malonildialdehído (MDA), la capacidad antioxidante del plasma (FRAP) y la resistencia globular de los eritrocitos (RG). Se obtuvo la fracción citosólica y membranal del eritrocito y se midió la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa en el citosol y MDA en las membranas. Se observó un aumento en el número de eritrocitos ( $p=0.02$ ) y en la viscosidad de la sangre ( $p=0.07$ ), sin cambios en la viscosidad, FRAP y MDA plasmáticos en las ratas estresadas. Se encontró también un mayor porcentaje de anisocitosis (16%) y una disminución de la RG ( $p=0.03$ ) en las ratas RM. La actividad de SOD ( $p=0.02$ ) y catalasa ( $p=0.04$ ) citosólica y MDA membranal ( $p=0.04$ ) aumentaron en respuesta al estrés, indicando un mayor desafío oxidativo en estos animales. Los niveles mayores de MDA en la membrana eritrocitaria podrían generar cambios en la permeabilidad de la misma y ser responsables de la menor RG observada en las ratas estresadas. Estos cambios oxidativos podrían modificar además la agregabilidad eritrocitaria y la fluidez de la sangre participando, junto con el mayor número de eritrocitos, en el aumento de la viscosidad sanguínea, afectando significativamente la perfusión tisular. El estrés crónico y la disminución gradual de las vías de reparación inducen cambios en la microcirculación y tendencia a la hemólisis intravascular, que potenciarían el deterioro funcional y la aparición de patologías relacionadas con el envejecimiento.



## 60. PARÁMETROS HEMORREOLÓGICOS Y MARCADORES PROTROMBÓTICOS EN RATAS VIEJAS SOMETIDAS A ESTRÉS CRÓNICO. <sup>1</sup>H Scoppa, <sup>1</sup>S Binotti, <sup>2</sup>A Echegaray, <sup>1</sup>N Bensi, <sup>1</sup>A Niebylski. <sup>1</sup>Fisiología Animal. UNRC. <sup>2</sup>Instituto de Nefrología y Urología Río Cuarto.

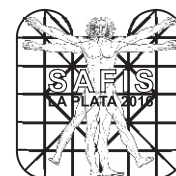
La trombosis es una importante causa de muerte y discapacidad en el mundo desarrollado y, con la adopción de estilos de vida no saludables, se está extendiendo a regiones en vías de desarrollo. Los elementos predisponentes involucran factores genéticos y adquiridos, tales como la edad y el estrés. La influencia de la edad sobre los cambios inducidos por el estrés en la hemostasia ha recibido sorprendentemente poca atención. Se ha informado que el envejecimiento está asociado con mayores niveles de fibrinógeno, dímero D y FVIII. Por otra parte, el aumento de la viscosidad sanguínea es un factor clásicamente descrito como inductor de trombosis. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos del estrés crónico sobre parámetros hemorreológicos y marcadores protrombóticos en ratas viejas. Se usaron ratas Wistar macho controles y estresadas por restricción de movimiento en cepo, 1 h/día, 3 veces por semana/45 días (RM). Las ratas se decapitaron, se recolectó sangre y se determinó el tiempo de coagulación, la viscosidad sanguínea y plasmática, el número de glóbulos rojos, el tiempo de protrombina y de tromboplastina parcial activada (APTT), el fibrinógeno, la lipoproteína (a), la homocisteína, el número de plaquetas y se determinó el índice de distribución plaquetario. Se observó un aumento en el número de eritrocitos ( $p=0.02$ ) y en la viscosidad de la sangre ( $p=0.07$ ), sin cambios en la viscosidad plasmática en las ratas estresadas. Los animales RM mostraron mayores valores de homocisteína ( $p=0.00001$ ), Lp(a) ( $p=0.02$ ), plaquetas ( $p=0.009$ ) y del índice de distribución plaquetaria ( $p=0.02$ ). El tiempo de coagulación ( $p=0.001$ ), de protrombina ( $p=0.001$ ) y el APTT ( $p=0.002$ ) fueron menores en las ratas RM que en las controles. La hiperhomocisteinemia, el aumento de Lp(a) y del número de plaquetas coinciden con la disminución del tiempo de coagulación, de protrombina y el APTT induciendo un estado protrombótico en situaciones de estrés crónico. El aumento en la viscosidad sanguínea y en el número de eritrocitos produciría alteraciones en la fluidez sanguínea, aumentando la resistencia al flujo y potenciando el estado de hipercoagulabilidad. Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que los valores de APTT disminuyen con la edad, efecto que es más marcado en ratas estresadas, por lo que debería considerarse al estrés entre los múltiples factores de riesgo que aumentan el estado protrombótico, en individuos aparentemente sanos, particularmente en el anciano.

aumento en la viscosidad sanguínea y en el número de eritrocitos produciría alteraciones en la fluidez sanguínea, aumentando la resistencia al flujo y potenciando el estado de hipercoagulabilidad. Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que los valores de APTT disminuyen con la edad, efecto que es más marcado en ratas estresadas, por lo que debería considerarse al estrés entre los múltiples factores de riesgo que aumentan el estado protrombótico, en individuos aparentemente sanos, particularmente en el anciano.

## Cardiovascular y Respiratorio 2

### 33. LA CARDIOPROTECCIÓN OBSERVADA DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE UN EXTRACTO DE COPOAZÚ ES MEDIADA POR LA ACTIVACIÓN DE eNOS. <sup>1</sup>JC Fantinelli, <sup>1</sup>LF González Arbeláez, <sup>1</sup>A Ciocci Pardo, <sup>2</sup>NL Cuellar Álvarez, <sup>2</sup>P Galeano García, <sup>2</sup>B Rojano, <sup>3</sup>GR Schinella, <sup>1</sup>SM Mosca. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr Horacio E Cingolani" (CIC), UNLP CCT-CONICET. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de la Amazonia Florencia (Caquetá) Colombia. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

Los objetivos del trabajo fueron examinar los efectos de la administración aguda de un extracto producto de la fermentación del fruto (copoazú) de *Teobroma grandiflorum* (CP) en isquemia-reperfusión, examinando las vías involucradas. Para ello, corazones de ratas Wistar macho aislados y perfundidos por el sistema de Langendorff se sometieron a 30 min de isquemia global (IG), seguidos de 60 min de perfusión (R) [grupo CI]. Otros corazones fueron tratados 10 min antes de la IG y durante los primeros 10 min de la R con 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de CP en ausencia ó en presencia de LG-nitro-L-arginina metil éster [L-NAME, inhibidor de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS)]. Al final de R se midió el tamaño del infarto (TI), mediante la tinción con sales de tetrazolio. Las funciones sistólica y diastólica fueron determinadas a través de la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PD) y la presión diastólica final (PDF), respectivamente. El estrés oxidativo fue evaluado a través del contenido de glutatión reducido (GSH) y de la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). En mitocondrias aisladas se determinó la apertura del poro de permeabilidad transitoria inducida por el  $\text{Ca}^{2+}$  a través del cambio de la dispersión de la luz (DL). También se midió la expresión de las formas fosforiladas de eNOS, Akt y PKC $\epsilon$ . CP disminuyó el TI con respecto



al grupo CI ( $9 \pm 2\%$  vs  $30 \pm 1\%$ ,  $p < 0.05$ ) y el L-NAME abolió dicho efecto ( $35 \pm 0.3\%$ ). La PD aumentó y la PDF disminuyó en corazones tratados con CP. Al final de R los valores fueron: PD =  $51 \pm 4\%$  vs  $15 \pm 4\%$ ; PDF =  $25 \pm 5$  vs  $57 \pm 4$  mmHg ( $p < 0.05$ ) y el L-NAME anuló dichos efectos (PD =  $19 \pm 5\%$  y PDF =  $48 \pm 5$  mmHg). El nivel de GSH disminuyó en CI, se preservó en tratados con CP ( $2.85 \pm 0.26$  vs  $1.51 \pm 0.29$  g/mg prot) y volvió a niveles similares al CI en presencia de L-NAME ( $1.57 \pm 0.14$  g/mg prot). TBARS no mostró diferencias significativas entre los grupos. La expresión de P-eNOS, P-Akt y P-PKC $\epsilon$  disminuyó en el grupo CI y aumentó en los tratados con CP. El tratamiento con L-NAME disminuyó el contenido de P-eNOS pero no modificó los niveles de P-Akt y P-PKC $\epsilon$ . En mitocondrias aisladas CP disminuyó significativamente la DL ( $0.26 \pm 0.10$  vs  $1.40 \pm 0.14$  u.a.) y L-NAME anuló dicho cambio ( $0.80 \pm 0.12$  u.a.).

Nuestros resultados muestran que CP protege de los daños producidos por la isquemia-reperusión a nivel miocárdico y mitocondrial. Estas acciones beneficiosas serían mediadas por activación de eNOS a través de vías cardioprotectoras que involucran a Akt y PKC $\epsilon$ .

**34. ESTUDIO DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA Y DE LA FUNCION CARDÍACA EN RATAS MACHOS EXPUESTAS A LA DEFICIENCIA MODERADA DE ZINC DURANTE LA VIDA PRENATAL Y POSTANATAL.** <sup>1</sup>N Gobetto, <sup>1</sup>M Aladro, <sup>1</sup>L Jurjol, <sup>1</sup>F Mendes Garrido, <sup>2</sup>L Gonano, <sup>2</sup>M Morell, M Gironacci, <sup>1</sup>C Caniffi, <sup>1</sup>R Elesgaray, <sup>2</sup>M Vila Petroff, <sup>1</sup>A Tomat, <sup>1</sup>C Arranz. <sup>1</sup>Cátedra de Fisiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. IQIIMEFA-CONICET. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata.

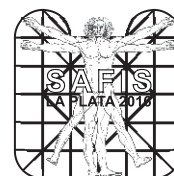
En trabajos previos demostramos que la deficiencia de zinc durante el crecimiento prenatal y postnatal induce en ratas macho un aumento de la presión arterial, acompañado por un menor desarrollo cardíaco, aumento de apoptosis y marcadores inflamatorios y disminución de las fracciones de eyección y de acortamiento del ventrículo izquierdo (VI). El sistema renina angiotensina (SRA) cardíaco ejerce un importante efecto modulador sobre la función y morfología del VI.

**Objetivo:** Evaluar las posibles diferencias en el manejo del Ca<sup>2+</sup> intracelular y el acortamiento celular en cardiomiocitos aislados, así como el sistema renina-angiotensina (SRA) en el VI de ratas machos adultas expuestas a una dieta baja en zinc durante la vida fetal, la lactancia y/o el crecimiento.

**Diseño experimental:** Ratas Wistar fueron expuestas desde la preñez hasta el destete de sus crías a una dieta deficiente en zinc (B, 8 ppm) o control (C, 30 ppm). Luego del destete, las crías machos B continuaron con dieta B (BB) o C (BC) durante 60 días. Las crías C continuaron con dieta control (CC). A los 81 días se determinó en VI: aumento transitorio de calcio intracelular durante la sístole (Fura-2 (340/380nm)) y acortamiento (% de longitud máxima) de cardiomiocitos aislados estimulados eléctricamente (microscopía de epifluorescencia); expresión de ARNm de la enzima convertidora de angiotensina (ECA, ECA/GADPH, RT-qPCR); expresión proteica de los receptores AT1 y AT2 (AT1-R, AT2-R, densidad óptica R/actina relativo a CCm, western blot) y concentraciones de Angiotensina II y Angiotensina 1-7 (pM/g tejido, radioinmunoensayo).

**Análisis estadístico:** Análisis de la varianza (ANOVA) de un factor, test a posteriori Bonferroni. Los resultados se expresan como media $\pm$ ESM. n=6 ratas/grupo. \* $p < 0,05$  vs. CCm; § $p < 0.05$  vs Bcm.

	CC	BB	BC
Acortamiento celular	10,6 $\pm$ 1.5	<b>5.8<math>\pm</math>0.7*</b>	12.5 $\pm$ 1.2
Amplitud de transitorios de Ca <sup>2+</sup>	0,34 $\pm$ 0,03	<b>0,13<math>\pm</math>0,03*</b>	<b>0,19<math>\pm</math>0,01*</b>
ECA	1,00 $\pm$ 0,04	1,31 $\pm$ 0,30	0,85 $\pm$ 0,08
AT1-R	1,00 $\pm$ 0,07	<b>1,32<math>\pm</math>0,04*§</b>	<b>1,81<math>\pm</math>0,09*</b>
AT2-R	1,00 $\pm$ 0,01	<b>1,37<math>\pm</math>0,06*</b>	1,09 $\pm$ 0,19
Angiotensina II	4,31 $\pm$ 1,43	<b>14,27<math>\pm</math>0,45*§</b>	2,34 $\pm$ 0,29
Angiotensina 1-7	0,63 $\pm$ 0,21	0,94 $\pm$ 0,23	0,65 $\pm$ 0,30



**Conclusiones:** Bbm presenta alteraciones del estado inotrópico cardíaco asociadas a una disminución en la disponibilidad del calcio citosólico y el acortamiento celular. Estos animales también presentan un incremento de la expresión de los receptores AT1 y AT2 y de las concentraciones de Angiotensina II en el VI. La restitución del adecuado aporte de zinc luego del destete no permitiría revertir totalmente estos cambios. Las alteraciones del SRA cardíaco podrían contribuir, junto con otros sistemas, a la disfunción cardíaca de estos animales adultos pero no podrían explicar el menor desarrollo este tejido.

**35. INFLUENCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS SOBRE EL PAPEL DESEMPEÑADO POR LA KINASA ACTIVADA POR AMP (AMPK) EN AURÍCULAS AISLADAS DE RATAS SOMETIDAS A ISQUEMIA REPERFUSIÓN SIMULADAS (Is Rs).** R Hermann, MM Fernández Pazos, V Mestre Cordero, F Reznik, D Vélez, E Savino, MG Marina Prendes, A Varela. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. IQIMEFA CONICET.

La AMPK, que estimula la glucólisis y la oxidación de ácidos grasos, es activada durante la isquemia. El papel desempeñado por esta enzima en la injuria por Is-Rs, en presencia de elevados niveles de ácidos grasos, como ocurre en el infarto agudo de miocardio, ha sido escasamente estudiado.

Anteriormente mostramos que en presencia de palmitato (P) 1,2mM, se acelera la aparición del pico de contractura isquémica y disminuye la reserva contráctil post-isquémica (RC). El Compuesto C (CC), inhibidor de la AMPK, cuando se emplea glucosa como único sustrato energético disminuye la RC, mientras que en presencia de P, si bien eleva el pico de contractura, revierte el efecto nocivo del P sobre la RC.

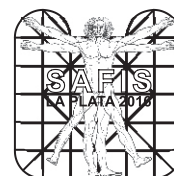
En este trabajo se investigó la influencia del P sobre el perfil de activación de la AMPK y sobre los efectos del CC (10 $\mu$ M) en la producción isquémica de lactato y el contenido de ATP tisular, en aurículas izquierdas aisladas de ratas hembras, incubadas en Krebs-Ringer (O295%-CO25%, pH 7,4, estimulación 1Hz) conteniendo glucosa 10mM o glucosa 10mM y P 1,2mM, sometidas a 75min Is-75min Rs. La Is se logró reemplazando O2 por N2, los sustratos energéticos por 2-desoxiglucosa, pH 6,8. Se empleó ANOVA, n=8.

sustratos energéticos por 2-desoxiglucosa, pH 6,8. Se empleó ANOVA, n=8.

Los resultados indican que la AMPK es activada durante la Is tanto en ausencia como en presencia de P, persistiendo su activación durante la Rs. El CC previene su activación en ambas condiciones metabólicas (p<0,05). La producción isquémica de lactato disminuyó en presencia de P; el CC, en ambas condiciones metabólicas, generó una disminución aún más pronunciada (Is:5,2 $\pm$ 0,5; Is+P:3,9 $\pm$ 0,8\*; Is+CC:2,1 $\pm$ 0,5\*; Is+P+CC:2,1 $\pm$ 0,6\*

**36. LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR GPER REGULA LA ACTIVIDAD MECÁNICA Y ELÉCTRICA DEL MIOCARDIO.** MS Espejo, AM Ibañez, G Mazzocchi, EA Aiello, VC De Giusti. Centro de Investigaciones Cardiovasculares Dr. Horacio E. Cingolani, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.

El receptor de estrógenos acoplado a proteína G (GPER) es un novedoso receptor descubierto en los años 90 como un receptor huérfano. Los estrógenos fueron catalogados como los ligandos endógenos, e incluso recientemente se ha demostrado que la aldosterona también ejerce ciertos efectos no-genómicos a través de dicho receptor. El descubrimiento del G1, su agonista selectivo, y de antagonistas como el G15 y G36, permitió avanzar rápidamente en las investigaciones relacionadas con la participación del GPER en la fisiopatología cardiovascular. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado la presencia del GPER a lo largo de los túbulos T, participando en la regulación de la actividad del cotransportador sodio/bicarbonato electrogénico (NBCe1). Dada su ubicación en la célula, el objetivo principal del presente trabajo es investigar la participación del GPER en la actividad mecánica y eléctrica cardíaca, dilucidando las vías intracelulares activadas. Utilizamos miocitos ventriculares de rata Wistar, en los cuales registramos el acortamiento celular mediante un detector de bordes celulares y corazones de ratones C57, en los cuales se registraron los potenciales de acción (PA) con microelectrodos convencionales. Para el análisis estadístico se realizó la prueba de T o ANOVA, según corresponda, considerándose significativo un p<0.05. La preincubación de los miocitos con G1 1  $\mu$ M aumentó la contractilidad en un 34,11  $\pm$  4, 42%, (n=24, p<0,05). Como era esperable, este efecto fue prevenido en presencia de G36 1  $\mu$ M (-2,36  $\pm$  1.87%, n=9). Ha sido demostrado que las especies reactivas del oxígeno (ROS) actúan como segundos mensajeros de diferentes hormonas que regulan la contractilidad cardíaca, como Endotelina-1, Angiotensina II y Aldosterona. Además, también están involucradas en la activación del NBCe1 por G1. Para investigar si los ROS participan también de la regulación de la



contractilidad por G1, los miocitos se preincubaron con MPG 2 mM. En esta condición, el G1 fue incapaz de incrementar el acortamiento celular ( $-10,7 \pm 12,4$  %,  $n=5$ ), sugiriendo la participación de los ROS en la vía intracelular. Paralelamente, se registraron los PA en corazones de ratón en presencia de G1, obteniendo un acortamiento en la duración del PA ( $8,2 \pm 3,3$ %,  $n=3$ ), consistente con la activación del NBCe1. Aunque la posible relación entre el efecto mecánico y el eléctrico queda aún por resolverse, estos resultados preliminares nos abren las puertas para seguir investigando la participación de la activación del GPER en la fisiología cardíaca.

**37. CARDIOMIOCITOS OVINOS ADULTOS MUESTRAN EXPRESIÓN INCREMENTADA DEL REGULADOR NEGATIVO DEL CICLO CELULAR MEIS1, UN POSIBLE BLANCO DE TERAPIA GÉNICA PARA LA REGENERACIÓN CARDÍACA.** <sup>1</sup>P Locatelli, <sup>1</sup>CS Giménez, <sup>1</sup>FD Olea, <sup>1</sup>MR Bauzá, <sup>1</sup>M Uranga Vega, <sup>1</sup>L Cuniberti, <sup>2</sup>D Ghiringhelli, <sup>1</sup>A Crottogini, <sup>2</sup>MN Belaich. <sup>1</sup>IMETTYB-Universidad Favaloro-CONICET. <sup>2</sup>Universidad Nacional de Quilmes.

**Objetivos:** El factor de transcripción meis1 posee un rol en la regulación del ciclo celular del cardiomiocito adulto. En ratones, meis1 genera el arresto del ciclo celular por medio de interacciones con proteínas inhibitorias del mismo (p15, p16, p19, p21). Recientemente se demostró que la disminución de su expresión es un estímulo mitogénico para cardiomiocitos postnatales. Por lo tanto, la inhibición de meis representaría un blanco potencial para terapias de regeneración cardíaca.

Nuestro objetivo fue comparar niveles de expresión de meis1 y otros genes de ciclo celular en cardiomiocitos ovinos adultos de fetos de menos de 100 días de gestación (cardiomiocitos mitóticos) y fetos de más de 100 días de gestación (cardiomiocitos post-mitóticos).

**Materiales y métodos:** Se diseñaron cebadores para amplificar fragmentos de los genes meis 1, cdkn1a, cdkn2aip, cdk2, cdk4, cdk6, ciclina E1, ciclina D2 y gapdh utilizando para su diseño la intersección de exones para detectar solamente RNAm. Se realizaron RT-PCR de punto final a partir de RNA extraído de miocardio de ovinos adultos. Los productos de PCR fueron recuperados y clonados dentro de plásmidos genéricos. Los insertos dentro de los plásmidos, cada uno conteniendo fragmentos de los genes seleccionados, fueron confirmados por secuenciación, y utilizados como calibradores de PCR en tiempo real (qPCR).

A partir de RNAm obtenido de fetos de edad gestacional <100 días ( $n=4$ ) y > 100 días ( $n=4$ ) se realizó RT-qPCR para obtener cuantificación absoluta de la expresión de los genes de interés y compararlos posteriormente con cardiomiocitos adultos.

La expresión se muestra como expresión absoluta del gen objetivo/expresión absoluta de GAPDH.

**Análisis estadístico:** Anova-Bonferroni, significación:  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Se optimizó la reacción de qPCR utilizando los plásmidos calibradores descriptos, obteniendo un rango dinámico de 102-108 para todos los genes y valores de eficiencia adecuados para estimaciones cuantitativas. La expresión de meis1 fue significativamente más elevada en cardiomiocitos ovinos adultos (meis1/gapdh: 0,410,05) y fetos de >100 días de gestación (meis1/gapdh: 0,510,03) respecto a los fetos de <100 días de gestación (meis1/gapdh: 0,290,03,  $p < 0,05$ ).

**Conclusión:** Meis1 se expresa en cardiomiocitos ovinos adultos, mostrando una expresión significativamente aumentada a partir de los 100 días de gestación. Terapias génicas dirigidas a disminuir la expresión de este gen inhibidor del ciclo celular son de potencial interés para obtener regeneración cardíaca.

**38. MODULACIÓN POR EL EJERCICIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA SEÑAL DE WNT EN EL CORAZÓN DURANTE EL ENVEJECIMIENTO.** FA Marchese, FJM Gallino, EA García Gras. CESyMA, ECyT, UNSAM-CONICET.

Las señales de Wnt controlan la diferenciación de los miocitos cardíacos durante el proceso embrionario. Una vez establecido el tipo celular, las señales de Wnt continúan regulando la expresión de una serie de genes esenciales para el correcto funcionamiento de los miocitos cardíacos. Asimismo, se postula que esta señal juega un papel activo en el envejecimiento. Resultados previos de nuestro laboratorio sugieren que la señal canónica de Wnt disminuye con el envejecimiento cardíaco.

Por otro lado, se ha observado que el ejercicio físico regular activa mecanismos cardioprotectores. Uno de los sistemas de transducción de señales más destacado en la adaptación del corazón al ejercicio es el "Insulin like growth factor-1 (IGF-1)-PI3k-Akt". Esta vía de señalización puede interactuar a su vez con componentes de la vía canónica de Wnt, estabilizando la  $\beta$ -catenina.



Se propone que el aumento de la señal de IGF1 causada por el ejercicio regular resultará en un mantenimiento de la señal canónica de Wnt en el miocardio vía Akt-GSK3 $\beta$  durante el envejecimiento.

Para evaluar la hipótesis, se usaron ratones machos BALB/c que entrenaron 1 h por día, 5 días a la semana. Estos animales se sacrificaron a los 6, 12 y 15 meses de edad. A dichas edades se analizó la expresión cardíaca de componentes de la señal de Wnt por PCR en tiempo real, y se compararon estos resultados con los obtenidos para el grupo control a las mismas edades.

Los resultados mostraron que algunos receptores (frizzled 1 y 4) tuvieron menores niveles de expresión con respecto a lo observado en los animales no entrenados, mientras que otros receptores y co-receptores (frizzled 5, 10 y lrp5) tuvieron un mayor nivel de expresión. Por otro lado, la expresión de wnt5a (blanco de  $\beta$ -catenina/FOXO, wnt conocido por ser no canónico) tiene un menor nivel de expresión a los 6 meses. Esto último sugiere una represión selectiva sobre la actividad transcripcional del dímero  $\beta$ -catenina/FOXO al realizar ejercicio.

En conclusión, estos resultados muestran que el ejercicio modula la evolución de los componentes de la vía Wnt, y que esta modulación puede implicar cambios en la performance cardíaca, ya que cambios en la expresión de los receptores, y co-receptores probablemente tendrían como consecuencia cambios en la expresión de blancos de la vía de Wnt.

**39. LA PROTEIN-QUINASA DEPENDIENTE DE AMP (AMPK) ACTIVA ENOS Y NNOS DURANTE EL ESTRÉS HIPEROSMÓTICO PROMOVRIENDO LA LIBERACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (NO). IMPACTO DEL NO EN LA FUNCIÓN CONTRÁCTIL.** M Morell, JI Burgos, LA Gonano, M Vila Petroff. Centro de Investigaciones Cardiovasculares Dr Horacio E Cingolani. La Plata. Buenos Aires. Argentina.

Las células cardíacas normalmente no están sometidas a estrés osmótico pero en ciertas situaciones patológicas como estados de deshidratación severa, hiperglucemia, hiperlipidemia y diabetes, los cardiomiocitos sufren estrés hiperosmótico (EH) y esto genera consecuencias sobre la función cardíaca como disfunción contráctil, remodelamiento histológico y eléctrico, mayor tamaño de infarto y elevada incidencia de arritmias.

como estados de deshidratación severa, hiperglucemia, hiperlipidemia y diabetes, los cardiomiocitos sufren estrés hiperosmótico (EH) y esto genera consecuencias sobre la función cardíaca como disfunción contráctil, remodelamiento histológico y eléctrico, mayor tamaño de infarto y elevada incidencia de arritmias.

El NO es una molécula de señalización altamente reactiva y un importante modulador de la función cardíaca. Estudios previos demuestran que el estrés hipotónico y el estiramiento axial se asocian con la liberación de NO. Sin embargo, si el EH se asocia con la liberación de NO no ha sido estudiado.

El objetivo de este estudio fue examinar si el EH promueve la liberación de NO y de ser así, determinar su impacto sobre la función contráctil.

Perfundir miocitos de ratas cargados con el sensor de NO (DAF-FM) en presencia de solución hipertónica (SH: 440 mOsm) provoca la disminución del volumen celular y el aumento de la fluorescencia de DAF-FM comparado con miocitos perfundidos con solución isotónica (SI: 309 mOsm). Cuando se exponen las células a la SH suplementada con L-NAME (inhibidor de la NOS), con Nitroguanidina (NG: inhibidor de la nNOS) y con Wortmanina (WT: inhibidor de la eNOS) éstas sufren la reducción en su volumen en ausencia de liberación de NO sugiriendo que el EH activa a la nNOS y la eNOS resultando en un aumento de la producción de NO. Consistentemente, mediante análisis por western blot, observamos que la perfusión de corazones enteros con SH promueve la fosforilación de eNOS y nNOS comparado con corazones perfundidos con SI.

Teniendo en cuenta que la protein-quinasa dependiente de AMP (AMPK) puede ser activada por deformación de la membrana en el músculo cardíaco y que puede fosforilar a nNOS y a eNOS examinamos si esta quinasa media la activación de las NOS inducida por EH. Exponer a los miocitos a SH en presencia de Dorsomorfina (inhibidor de AMPK) previno el aumento de NO sugiriendo que esta quinasa sería la responsable de la activación de las NOS durante el EH.

En experimentos donde evaluamos el acortamiento celular observamos que el EH se asocia con un efecto inotrópico negativo (EIN). Éste EIN se exagera aún más en presencia de L-NAME, ODQ (inhibidor de guanilato ciclasa) y KT5823 (inhibidor de PKG) sugiriendo que el NO estaría generando el soporte contráctil vía GMPc/PKG.

En conjunto los resultados sugieren que durante el estrés hiperosmótico la AMPK fosforila a nNOS y eNOS con la consecuente producción de NO. Éste genera soporte contráctil durante el EH a través de un mecanismo GMPc/PKG dependiente.





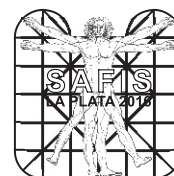
**40. MOSCAS FUMADORAS DE TABACO Y CARDIOPATÍAS. EFECTO DE LA NICOTINA EN LA FUNCIÓN CARDÍACA DE DROSOPHILA MELANOGASTER.** <sup>1</sup>L Morro, <sup>1</sup>B Brugo, <sup>1</sup>A Villegas, <sup>1</sup>R Fernández, <sup>1</sup>N Beltrame, <sup>1</sup>A Icardi, <sup>2</sup>A Mattiazzi, <sup>2</sup>M Santalla, <sup>2</sup>CA Valverde, <sup>2</sup>P Ferrero. <sup>1</sup>Depto de Ciencias Básicas y Experimentales. UNNOBA. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares- Horacio E Cingolani. Depto de Ciencias Básicas y Experimentales. UNNOBA.

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* es un excelente modelo para estudiar la acción de genes sobre las adicciones humanas. Aquí, proponemos un diseño experimental de “moscas fumadoras activas” para estudiar efectos nocivos del tabaco. Esto es así puesto que se les administra mediante un dispositivo de diseño propio el humo que pasa por el filtro del cigarrillo, de manera semejante al modo en que lo hace un fumador. Se conoce que los componentes del cigarrillo provocan enfermedad de arteria coronaria, apoptosis de cardiomiocitos, infarto agudo de miocardio y cardiopatías congénitas en pacientes y en otros organismos modelo. Los mecanismos por los cuales los componentes del tabaco inducen cardiomiopatías no se conocen con claridad. Nuestros resultados experimentales indicaron que el humo del cigarrillo redujo la sobrevivencia de las moscas adultas. Además, aumentó la frecuencia cardíaca (en latidos/min,  $105.8 \pm 6.9$   $n=12$ ,  $155.5 \pm 14.6$   $n=6$ , sin y con exposición al tabaco respectivamente), que se acompañó de una disminución en la amplitud del transitorio de calcio (en unidades arbitrarias de fluorescencia UA:  $1.27 \pm 0.2$   $n=10$ ,  $0.25 \pm 0.05$   $n=7$ ), en las velocidades ( $+dF/dt$   $0.44 \pm 0.08$   $\text{seg}^{-1}$   $n=9$ ,  $0.8 \pm 0.16$   $\text{seg}^{-1}$   $n=7$ ,  $-dF/dt$   $0.37 \pm 0.06$   $\text{seg}^{-1}$   $n=9$ ,  $0.83 \pm 0.18$   $\text{seg}^{-1}$   $n=7$ ) y los tiempos de contracción (TTP  $0.16 \pm 0.01$   $\text{seg}$   $n=12$ ,  $0.12 \pm 0.01$   $\text{seg}$   $n=5$ ) y relajación ( $t_{1/2}$   $0.12 \pm 0.01$   $\text{seg}$   $n=12$ ,  $0.07 \pm 0.02$   $\text{seg}$   $n=5$ ). Estos mismos resultados se observaron con la administración de una dosis alta de nicotina en agudo sobre un preparado semi-intacto demostrando así que la nicotina sería el componente del cigarrillo capaz de producir dichos efectos. Finalmente, la acción de la nicotina sobre el corazón podría estar mediada parcialmente por una cascada tipo beta adrenérgica ya que el bloqueante de receptores beta, el atenolol, previno los cambios inducidos por la nicotina sobre la frecuencia cardíaca (pre-nicotina  $68.4 \pm 5.2$   $\text{lat}/\text{min}$   $n=5$ , con nicotina  $76.2 \pm 4.88$   $\text{lat}/\text{min}$   $n=5$ ) y la cinética del transitorio de calcio (ej: amplitud  $0.6 \pm 0.2$   $n=8$ ,  $0.6 \pm 0.2$   $n=8$ , relajación  $0.19 \pm 0.03$   $n=7$ ,  $0.13 \pm 0.03$   $n=7$ ). Nuestros resultados validan el dispositivo diseñado y el modelo de estudio, para analizar respuestas fisiopatológicas a la exposición al tabaco.

sobre la frecuencia cardíaca (pre-nicotina  $68.4 \pm 5.2$   $\text{lat}/\text{min}$   $n=5$ , con nicotina  $76.2 \pm 4.88$   $\text{lat}/\text{min}$   $n=5$ ) y la cinética del transitorio de calcio (ej: amplitud  $0.6 \pm 0.2$   $n=8$ ,  $0.6 \pm 0.2$   $n=8$ , relajación  $0.19 \pm 0.03$   $n=7$ ,  $0.13 \pm 0.03$   $n=7$ ). Nuestros resultados validan el dispositivo diseñado y el modelo de estudio, para analizar respuestas fisiopatológicas a la exposición al tabaco.

**41. CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LOS MECANISMOS ALCALINIZANTES DE LOS CARDIOMIOCITOS KNOCKOUT PARA EL COTRANSPORTADOR  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  ELECTRONEUTRO (NBCn1ko/ko).** <sup>1</sup>A Orłowski, <sup>1</sup>EA Aiello, <sup>2</sup>E Boedtkjer. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones Cardiovasculares, UNLP-CONICET. <sup>2</sup>Department of Biomedicine, University of Aarhus, Dinamarca.

El miocito cardíaco posee diferentes transportadores iónicos para regular el pH intracelular ( $\text{pH}_i$ ), entre ellos se encuentran el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE) y dos isoformas del cotransportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  (NBC), la electroneutra ( $\text{Na}^+:\text{HCO}_3^-$ , NBCn1) y la electrogénica ( $\text{Na}^+:\text{HCO}_3^-$ , NBCe1). Estos transportadores regulan el  $\text{pH}_i$  a expensas de aumentar el  $\text{Na}^+$  intracelular ( $\text{Na}^+$ ). El incremento del  $\text{Na}^+$  aumenta el  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular conduciendo a la hipertrofia cardíaca (HC) y a la generación de arritmias. Con el objetivo de estudiar la contribución del NBCn1 en la regulación del  $\text{pH}_i$ , se desarrolló un ratón knockout para el gen del NBCn1. Se utilizaron células aisladas cargadas con un indicador fluorescente sensible a  $\text{pH}_i$ . La actividad de los transportadores alcalinizantes se evaluó mediante una acidificación intracelular a través de un pre-pulso de  $\text{NH}_4^+$ . En una solución amortiguadora libre de  $\text{HCO}_3^-$  se encontró un aumento significativo de la actividad del NHE1 ( $\text{mM H}^+/\text{min}$ , WT:  $0.094 \pm 0.006$ ,  $n=19$ ; KO:  $0.135 \pm 0.009^*$ ,  $n=18$ ;  $*p < 0.05$ ), mientras que en presencia de  $\text{HCO}_3^-$  la actividad del NBC total no fue mayor ( $\text{mM H}^+/\text{min}$ , WT:  $0.0665 \pm 0.005$ ,  $n=11$ ; KO:  $0.074 \pm 0.005$ ,  $n=13$ ). La capacidad amortiguadora intrínseca de ambas cepas se mantuvo igual (WT:  $122.22$   $\text{mM}/\text{pH}$ ,  $n=10$ ; KO:  $140.58$   $\text{mM}/\text{pH}$ ,  $n=8$ ). Se determinó la actividad del NBCe1 de forma aislada mediante una despolarización por alto  $\text{K}^+$ , obteniéndose un aumento significativo de su actividad ( $\text{DpH}$ , WT:  $0.11 \pm 0.012$ ,  $n=13$ ; KO:  $0.18 \pm 0.012^*$ ,  $n=11$ ;  $*p < 0.05$ ). El  $\text{pH}_i$  basal fue significativamente diferente solo cuando se bloqueó farmacológicamente el NHE1 con HOE642 (WT:  $7.16 \pm 0.01$ ,  $n=13$ ; KO:  $7.08 \pm 0.01^*$ ,  $n=11$ ;  $*p < 0.05$ ). Se realizó el cociente entre el peso de corazón/ peso corporal



obteniéndose diferencias no significativas (g/mg, WT:  $5.72 \pm 0.25$ ,  $n=10$ ; KO:  $5.71 \pm 0.22$ ,  $n=10$ ). En conclusión, la delección del NBCn1 produce una respuesta compensatoria incrementando la actividad del NHE1 y del NBCe1. A pesar de que el desarrollo de hipertrofia cardiaca ha sido relacionado con la hiperactividad del NHE, no se encontró un aumento del tamaño del corazón. El NBCe1 debido a su estequiometría incorpora la mitad de  $\text{Na}^+$  que el NBCn1 y el NHE1, es posible que el aumento de la actividad del NBCe1 evite un incremento de  $\text{Na}^+$  y el posterior desarrollo de hipertrofia cardiaca.

**42. EFECTO FUNCIONAL DE LA OXIDACIÓN DEL CANAL LIBERADOR DE CALCIO (RYR2) DURANTE LA REPERFUSIÓN MIOCÁRDICA POST-ISQUÉMICA.** B Román, RV Becerra, JIE Mariangelo, MA Salas, LB Vittone, C Mundiña-Weilenmann, M Said. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CCT-CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

La actividad del canal liberador de  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo sarcoplasmático cardíaco, o receptor de rianodina (RyR2), puede ser modulada por múltiples factores. En experimentos previos demostramos que, tanto la fosforilación (dependiente de CaMKII) como los cambios redox del RyR2 están asociados al aumento en la aparición de arritmias durante la reperfusión miocárdica post-isquémica (R). El objetivo de este trabajo fue estudiar si la oxidación del RyR2 inducida por la R repercute sobre la actividad del canal. Para ello, miocitos ventriculares aislados de ratones C57BL/6 y cargados con el indicador fluorescente FLUO 4 fueron sometidos a un protocolo de isquemia simulada/reoxigenación (20/10min), en presencia y ausencia del antioxidante MPG. Mediante microscopía confocal se examinaron las pérdidas espontáneas de  $\text{Ca}^{2+}$  (sparks) a través del RyR2, reconocidas como posibles promotoras de arritmias. El tratamiento con MPG disminuyó significativamente el estrés oxidativo citosólico y la oxidación del RyR2 causados por la R, como lo demuestra la recuperación a valores controles (Ctrl) de los niveles de glutatión reducido (GSH) y el contenido de -SH libres (medidos por mBB). Los datos obtenidos fueron: GSH (en % g/gr tejido)  $44,6 \pm 2,0$  Ctrl;  $31,4 \pm 1,5$  R y  $45,9 \pm 5$  R+MPG,  $n=4-7$  y el contenido de -SH libres del RyR2 (como % del Ctrl)  $80,3 \pm 4,8$  R y  $108,7 \pm 0,5$  R+MPG;  $n=3$ . El análisis de las liberaciones espontáneas de  $\text{Ca}^{2+}$  por el RyR2 mostró un aumento al inicio de la R respecto a los valores Ctrl (R:  $11,1 \pm 1,7$  vs Ctrl:  $3,3 \pm 0,4$  sparks/100 $\mu\text{m}$ /seg,  $n=28-41$  células de 6 animales,  $P < 0,05$ ) que se revirtió por el tratamiento con MPG ( $2,5 \pm 0,8$  sparks/100 $\mu\text{m}$ /seg,  $n=9$  células de 3 animales). Los resultados sugieren que durante la reperfusión post-isquémica la oxidación del RyR2 promueve la pérdida espontánea de  $\text{Ca}^{2+}$  por el canal, generando un escenario posible para la aparición de arritmias.

**43. PROTECCIÓN CONTRA EL DAÑO MIOCÁRDICO POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN (I-RP) EN EL TRATAMIENTO AGUDO CON ROSUVASTATINA (R).** D Vélez, V Mestre Cordero, M Barreda Frank, R Hermann, E Savino, A Varela, MG Marina Prendes. Cátedra de Fisiología, FFyB- UBA IQUIMEFA-CONICET.

Es sabido que la R posee efectos pleiotrópicos y entre ellos, en nuestro laboratorio pudimos comprobar que la administración aguda de esta estatina en corazones sometidos a isquemia-reperfusión tiene efectos cardioprotectores directos, los cuales podrían depender de la activación de la vía PI3K/Akt. En esta oportunidad nos propusimos investigar la relación existente entre sus efectos beneficiosos, la producción tisular de ácido láctico, la preservación de la capacidad de síntesis de ATP de las mitocondrias de los corazones sometidos a I-RP, como así también los cambios en la transición de la permeabilidad mitocondrial y su posible relación con la vía PI3K/Akt. Se emplearon corazones perfundidos Langendorff provenientes de ratas hembras Wistar (250–300 g) alimentadas ad libitum. Los mismos fueron sometidos a 25 min de I, 60 min de RP. La R (3 $\mu\text{M}$ ) se administró en el medio de perfusión 10 min antes de la I global total, la W (100nM), inhibidor de la vía PI3K/AKT, se suministró 5 min antes de la R y se mantuvo durante la I. Se tomaron muestras tisulares al finalizar la estabilización y la isquemia para establecer la producción de ácido láctico, y al finalizar la reperfusión para proceder al aislamiento mitocondrial. La activación de la vía PI3K/Akt fue estudiada por medio de Western Blot. La R demostró retrasar la apertura del PTPM (resultados expresados como % de caída de la Abs inicial con 200 $\mu\text{M}$  y 300 $\mu\text{M}$   $\text{CaCl}_2$  respectivamente): C:  $2.50 \pm 0.34$ ; R:  $0.75 \pm 0.15^*$ ; W:  $2.55 \pm 0.22$ ; R+W:  $2.43 \pm 0.28$ ; C:  $2.25 \pm 0.30$ ; R:  $1.24 \pm 0.20^*$ ; W:  $2.50 \pm 0.23$ ; R+W:  $2.43 \pm 0.30$  (\* $p < 0.05$  vs % de caída de Abs en respuesta a todas las concentraciones menores de  $\text{CaCl}_2$  en el mismo grupo), y preservar la capacidad de síntesis de ATP (ATP moles/ $\mu\text{g}$  de proteínas.min),



mientras que el empleo de W anuló las diferencias entre los grupos experimentales: C:  $1.82 \pm 0.12$ , W:  $2.06 \pm 0.20$ , R  $8.89 \pm 0.22^*$ , R+W:  $1.5 \pm 0.33$ , ( $*p < 0.05$  vs C, W, R+W). Los valores de ácido láctico fueron significativamente menores en los corazones tratados con R (umoles/g ps): C:  $146.28 \pm 6.60^*$ ; R:  $56.68 \pm 6.77$ ; W:  $65.31 \pm 5.22$ ; R+W:  $61.35 \pm 4.10$ , demostrando una posible relación entre la menor producción de ácidos fijos en el tejido y un retraso en la apertura del PTPM. La relación AktP/Akt-T fue significativamente mayor en el grupo R. La activación de la vía PI3K/Akt podría estar implicada en los eventos observados en este trabajo frente a la administración aguda de R.

#### **44. ROL DEL CO-TRANSPORTADOR SODIO/BICARBONATO NBCN1 MITOCONDRIAL EN EL CORAZÓN HIPERTRÓFICO.** F Carrizo Velásquez, LA Vargas, BV Alvarez. Centro de Investigaciones Cardiovasculares.

**Introducción:** El co-transportador  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  (NBC) y el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE1) han sido asociados con desordenes cardíacos. Recientemente fueron encontrados en mitocondrias de cardiomiocitos y células coronarias. El bloqueo del NHE mitocondrial (mNHE) disminuye la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (MPTP) y reduce la producción de especies reactivas del oxígeno, dos eventos críticos exacerbados en enfermedades cardíacas. En cambio, la activación de la isoforma electroneutra del NBC (NBCn1) en mitocondrias, previene la apoptosis de células endoteliales coronarias sometidas a stress.

**Resultados:** Nosotros caracterizamos los roles de ambos transportadores en mitocondrias aisladas de corazones de ratas controles (Wistar), y de corazones hipertroficados de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Para estudiar el mNHE1 se realizaron inmunoblots de lisados mitocondriales, en el cual se observó un incremento de ~40% en su expresión en ratas hipertroficadas con respecto a las controles (n=4). Con respecto a la actividad del intercambiador, las mitocondrias fueron cargadas con BCECF-AM para monitorear la fluorescencia por el cambio de pH cuando se adicionó 50 mM de  $\text{Na}^+$ . Las mitocondrias de ratas SHR mostraron un gran cambio de pH asociado al intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  con respecto a las Wistar,  $0.10 \pm 0.01$  vs  $0.06 \pm 0.01$ . Además, las suspensiones mitocondriales fueron expuestas a 200  $\mu\text{M}$  de  $\text{CaCl}_2$  para inducir la apertura del MPTP (medida por la disminución en la dispersión de luz) con el subsecuente hinchamiento mitocondrial. Como resultado, se observó que las mitocondrias de las ratas SHR tenían una menor dispersión de luz y por lo tanto, menor hinchamiento con respecto al control,  $67 \pm 10\%$  (n=26) vs  $100 \pm 8\%$  (n=23).

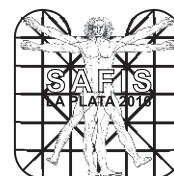
Por otro lado, cuando se estudió la expresión del NBCn1, este se vió incrementado en un ~70% (n=5) en mitocondrias de ratas SHR con respecto al control. Cuando el NBC fue bloqueado con el inhibidor S0859, se produjo un aumento en el hinchamiento mitocondrial de ambas ratas, Wistar ( $139 \pm 10\%$ ) y SHR ( $115 \pm 10\%$ ).

**Conclusión:** Todos estos resultados sugieren que el incremento de la actividad del NBCn1 juega un rol compensatorio en corazones hipertroficados, protegiendo a la mitocondria de la apertura del MPTP inducido por  $\text{Ca}^{+2}$  y el subsiguiente hinchamiento mitocondrial.

## **Fisiología Celular 2**

#### **45. REGULACIÓN DE ATP EXTRACELULAR DE ERITROCITOS HUMANOS EXPUESTOS A ALFA HEMOLISINA ASOCIADA A VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA.** <sup>1, 3</sup>MF Leal denis, <sup>1</sup>CI Álvarez, <sup>1</sup>N Lauri, <sup>2</sup>S Mate, <sup>2</sup>V Herlax, <sup>1, 4</sup>PJ Schwarzbaum. <sup>1</sup>IQUIFIB-CONICET/UBA. Junín 956. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>INBIOLP- CONICET/UNLP. Calle 60 y 120. La Plata, Argentina. <sup>3</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Analítica y Físicoquímica. Cátedra de Química Analítica. Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Biológica. Cátedra de Química Biológica Superior. Buenos Aires, Argentina.

La  $\alpha$ -hemolisina (HlyA) es una toxina extracelular secretada por cepas uropatógenas de *Escherichia coli*. Estas cepas pueden secretar al lumen vascular HlyA libre o asociada a vesículas llamadas OMVs (outer membrane vesicles). Ambas formas pueden interactuar con la membrana plasmática de eritrocitos humanos (h-RBCs), induciendo cambios metabólicos poco conocidos. Estudiamos si HlyA asociada a OMVs (OMVs-HlyA) es capaz de activar la salida de ATP de h-RBCs, provocando cambios temporales en la acumulación de ATP extracelular (cinética de ATPe). Se aislaron OMVs-HlyA a partir una cepa de *E. coli* WAM1824. Los h-RBCs (2  $10^8$  células) fueron expuestos a concentraciones variables de OMVs-HlyA por 5 y 10 min a 37 °C. Cambios en la [ATPe] fueron determinados por una reacción luminiscente (luciferina-luciferasa). Los resultados muestran que OMV-HlyA indujo salida de ATP y hemólisis de distinta magnitud, dependiendo de la concentración de OMVs y del tiempo de



exposición. Con 5 ng prot/ $\mu$ l de OMV-HlyA, la [ATPe] se incrementó de  $383 \pm 54$  (5 min) a  $1117 \pm 533$  nM (10 min), mientras que el % de hemólisis fue de 0.1% y 0.8%, respectivamente; indicando que éste incremento correspondió mayormente a salida no lítica de ATP. Con 10 ng prot/ $\mu$ l de OMV-HlyA, la hemólisis se incrementó de 9.4% (5 min) a 42.2% (10 min), lo que llevaría a un incremento de la [ATPe] por salida lítica de ATP. Sin embargo, la [ATPe] disminuyó de  $40 \pm 7$   $\mu$ M (5 min) a  $4 \pm 2$   $\mu$ M (10 min). Este resultado podría deberse a un incremento en la hidrólisis de ATPe por ATPasas intracelulares liberadas por hemólisis. En efecto, al determinar la velocidad de hidrólisis de ATPe de hemolisados de h-RBCs, observamos que la actividad ATPasica fue una función lineal del número de células lisadas, con actividad ATPasica a 600nM ATP de 6 nM/(min 106células lisadas). Es decir, que el aumento observado en el grado de hemólisis (5 min vs 10 min de exposición) permitiría explicar la disminución de la [ATPe] con el tiempo de incubación, considerando que la actividad ATPasica de las OMVs es despreciable en estas condiciones. En resumen OMVs-HlyA induce salida de ATP, tanto lítica como no lítica. A mayor concentración de OMVs-HlyA se esperaba observar una mayor [ATPe], pero por el contrario ésta disminuye debido a la actividad de ATPasas intracelulares liberadas al medio por hemólisis.

Con subsidios UBACYT (20020130100027BA), PICT 2014-0327, CONICET (PIP 20110100639 Y 11220150100459) y ECOS Sud (Francia)-MINCYT(Argentina) A15S01, PDS-CIN 193.

**46. INTERACCIÓN ENTRE LA AQUAPORINA 1 Y EL CANAL EPITELIAL DE SODIO: LA TENSIÓN DE LA MEMBRANA CELULAR COMO UN MECANISMO FISIOLÓGICO QUE MODULA LA PERMEABILIDAD AL AGUA.** M Lenze, L Campana, F Costa Almar, R Goldman, M Ozu, R Toriano. Laboratorio de Biomembranas. IFIBIO "Houssay" CONICET-UBA. Dpto. de Cs. Fisiológicas, Facultad de Medicina, UBA.

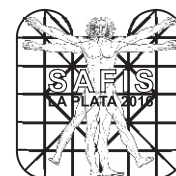
La AQP1 es el canal de agua mejor descrito de la familia de las aquaporinas. Clásicamente la permeabilidad (Pf) de AQP1 se asumía como un valor constante. Actualmente se sabe que existen diferentes factores de la organización celular que influyen y modifican el valor de Pf. Nuestro grupo ha descrito a la tensión de la membrana plasmática como un mecanismo modulador para la permeabilidad del canal. Por otro lado, el canal epitelial de sodio (ENaC) ha sido descrito como una proteína cuya expresión afecta la tensión de la membrana plasmática, particularmente en el endotelio vascular, tejido en el que se expresan normalmente ambas proteínas de membrana. En este trabajo comparamos ovocitos de *X. laevis* -un sistema de expresión de proteínas heterólogas- que expresan una o ambas proteínas, frente a diferentes situaciones experimentales. Al exponerlos a un shock hiposmótico (60mOSM, manitol) se observó una diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) en el aumento del volumen relativo que desarrollaron los ovocitos que coexpresan AQP1+ENaC vs los que expresan AQP1. Estas diferencias significativas se repitieron al calcular los flujos de volumen ( $J_v$ ) entrantes a tiempos largos (200s). Sin embargo los valores de Pf no mostraron diferencias significativas al ser calculadas a la manera clásica (tiempos cortos, 10s) Tanto las Pf como los  $J_v$  fueron significativamente diferentes al comparar ovocitos que expresan AQP1 y AQP1+ENaC vs ovocitos que expresan ENaC. Estos últimos no presentaron diferencia alguna con los que fueron inyectados con agua (control negativo). En presencia de amiloride, un inhibidor del ENaC, los valores del  $J_v$  entrante de los ovocitos con AQP1+ENaC resultaron semejantes a los obtenidos en ovocitos con AQP1 sola. Paralelamente se realizó una caracterización mecánica de cada sistema, registrando en simultáneo los cambios de volumen y de presión intracelular (PIC) de los ovocitos que expresan AQP1 o ENaC o coexpresan AQP1+ENaC, en dos condiciones experimentales:

i) condición estática (medio isotónico): micro-inyección de pulsos de volumen (0.16 $\mu$ l) hasta el estallido del ovocito. Se observó un aumento de PIC al aumentar el volumen, pero con diferencias significativas en la PIC que desarrollan los ovocitos con AQP1+ENaC vs los ovocitos con AQP1 ( $p < 0.05$ ).

ii) condición dinámica (shock hiposmótico): en este caso los aumentos de volumen cursan con una ligera disminución de la PIC que se acentúa en los ovocitos que coexpresan AQP1+ENaC. Estos últimos resultados darían cuenta de cambios en la elastancia de la membrana del ovocito, según las proteínas que se expresen en el sistema.

**47. ESTUDIO DE LA MIGRACIÓN DEPENDIENTE DE AQUAPORINA 2 (AQP2) EN LA LÍNEA CELULAR RENAL MPKCCDC14.** T Mendivil, N Beltramone, A Pizzoni, V Rivarola, P Ford, C Capurro, G Di Giusto. Laboratorio de Biomembranas, IFIBIO-HOUSSAY, Facultad de Medicina, UBA.

La migración es un proceso que implica cambios del volumen celular: una característica común de las células



migrantes es la polarización dentro del plano de movimiento originando un lamelipodio y un cuerpo celular. Nuestros resultados previos, utilizando como modelos experimentales dos líneas celulares de túbulo colector cortical renal (RCCD1) -una transfectada que expresa constitutivamente AQP2 en la membrana apical y otra que no-, mostraron que la presencia de AQP2 favorece la migración celular. El objetivo del presente trabajo consistió en corroborar dichos resultados utilizando otro modelo de células de túbulo colector cortical: mpkCCDc14, que expresa endógenamente AQP2. La ventaja de esta línea radica en la posibilidad de estimularla con cAMP o AVP para producir la incorporación de AQP2 en la membrana apical, tal como ocurre fisiológicamente en los túbulos renales. En este modelo evaluamos la participación de AQP2 en la migración realizando el ensayo de cicatrización de herida (wound healing) y midiendo el % de cicatrización de la monocapa a las 4 hs. Luego, mediante inmunofluorescencia utilizando un marcador de membrana plasmática, realizamos la determinación del volumen celular y de los lamelipodios de las células migrantes. Los resultados del wound healing mostraron que las células estimuladas, con dbAMPc o con AVP, cubren una mayor superficie de herida que las células control no estimuladas (Control:  $55 \pm 2\%$ , n=13; dbAMPc:  $60 \pm 2\%^*$ , n=11; AVP:  $67 \pm 2\%^{***}$ , n=8;  $*p < 0,05$ ,  $***p < 0.001$ ). En cuanto al análisis del volumen los resultados mostraron que si bien las células migrantes estimuladas -con dbAMPc o con AVP- tienen una tendencia a reducir su volumen celular esta diferencia no es significativa respecto a las no estimuladas (Control:  $5261 \pm 801\mu\text{m}^3$ , n=12; dbAMPc:  $4301 \pm 465\mu\text{m}^3$ , n=11; AVP  $3692 \pm 390\mu\text{m}^3$ , n=7). Sin embargo, analizando el volumen de los lamelipodios de células no estimuladas encontramos que son significativamente mayores que los de las estimuladas (Control:  $1305 \pm 263\mu\text{m}^3$ , n=12; dbAMPc:  $678 \pm 113\mu\text{m}^3*$ , n=11; AVP:  $646 \pm 86\mu\text{m}^3*$ , n=7;  $*p < 0,05$ ). En base a los resultados obtenidos en nuestro nuevo modelo experimental afirmamos que la presencia de AQP2 favorece la migración celular. El volumen del lamelipodio de las células que expresan AQP2 en la membrana apical resultó ser menor que en células control por lo que suponemos estarían facilitados los flujos de agua. Por lo tanto, proponemos que los cambios rápidos y localizados del volumen del lamelipodio dependientes de AQP2 resultarían claves para el favorecimiento del proceso de migración celular.

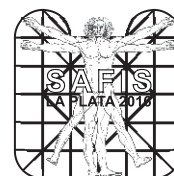
**48. EL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO MODIFICA LA MODULACIÓN DEL CANAL BK POR LA SUBUNIDAD B1: EFECTOS SOBRE LA ACTIVACIÓN DEL SENSOR DE VOLTAJE Y LA APERTURA INTRÍNSECA DEL CANAL.** M Moncada, P Martín, N Enrique, V Milesi. Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos (IIFP) – UNLP- CONICET.

El Ácido araquidónico (AA) es un ácido graso poliinsaturado involucrado en la modulación de la actividad de numerosos canales iónicos. Anteriormente reportamos que el AA  $10\mu\text{M}$  activa al canal de  $\text{K}^+$  de alta conductancia  $\text{Ca}^{2+}$ - y voltaje-dependiente (BK) cuando la subunidad  $\alpha$  del canal se expresa junto a la subunidad reguladora  $\beta 1$ , generando un cambio en la dependencia de la activación por el voltaje (desplaza la curva G-V hacia la izquierda,  $\Delta V_{1/2} = -55.2 \pm 4.4\text{ mV}$ , n=3,  $p < 0.05$ ), el cual no se observa en ausencia de subunidades reguladoras  $\beta$  (Moncada et al 2014).

En este trabajo, profundizamos el mecanismo de acción del AA usando la técnica de patch clamp sobre el canal expresado en células HEK. Para verificar si el efecto del AA es directo o mediado por sus metabolitos, evaluamos su acción cuando sus enzimas metabolizadoras se encuentran farmacológicamente bloqueadas (CDC, indometacina, 17-ODYA). Observamos que el AA continúa activando al canal (n=8).

Teniendo en cuenta que la subunidad  $\beta 1$  modula el sensor de voltaje y la apertura intrínseca del canal, analizamos si el AA activa al canal modificando la modulación por  $\beta 1$  de estos procesos. Para ello, midiendo las corrientes de compuerta del canal, evaluamos si el sensor del voltaje está afectado por el AA. Observamos que el AA desplaza la curva Q-V hacia la izquierda ( $\Delta V_{1/2} = -17.2 \pm 8.1\text{ mV}$ , n=5,  $p < 0.05$ ). Sabiendo que los residuos Y74 y S104 del loop extracelular de  $\beta 1$  están involucrados en la regulación del sensor de voltaje por esta subunidad, evaluamos el efecto del AA en los mutantes Y74A y S104A, que presentan pérdida de función. Se observó una disminución significativa en el efecto del AA sobre el canal expresado con  $\beta 1\text{Y74A}$  ( $\beta 1\text{wt}$ :  $\Delta V_{1/2} = -43.37 \pm 5.75\text{ mV}$ , n=6;  $\beta 1\text{Y74A}$ :  $\Delta V_{1/2} = -22.56\text{ mV} \pm 2.7$ , n=8;  $p = 0.015$ ), mientras que con  $\beta 1\text{S104A}$  no se vio modificación respecto a  $\beta 1\text{wt}$ . Por otro lado, estudiamos si el AA activa modificando también la apertura intrínseca del canal (NPoi). Los resultados obtenidos muestran un aumento de la NPoi frente al agregado del AA en todas las células ensayadas (n=4).

Estos datos nos permiten proponer que la activación del canal BK por el AA es directa, requiere de la presencia de la subunidad  $\beta 1$  e involucra la modificación de dos procesos: la apertura intrínseca del canal y la activación del



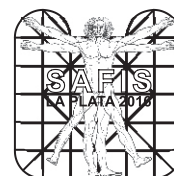
sensor de voltaje. Además, los datos sugieren la participación del residuo Y74 de  $\beta 1$  en la activación del canal.

**49. CONTRIBUCIÓN DEL  $Ca^{2+}$  EXTRA E INTRACELULAR A LA REGULACIÓN DEL VOLUMEN EN CÉLULAS DE MÜLLER.** V Netti, JM Fernández, M Kalstein, A Pizzoni, G Di Giusto, V Rivarola, P Ford, C Capurro. Laboratorio de Biomembranas. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay). CONICET-UBA, Departamento de Ciencia Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155, C1121ABG Buenos Aires, Argentina.

En la retina, las células de Müller controlan la homeostasis del medio extracelular donde la actividad neuronal altera los gradientes osmóticos favoreciendo el swelling celular. Este swelling es seguido de una respuesta reguladora de descenso de volumen (RVD), mediado parcialmente por un flujo isosmótico de KCl y agua a través de canales iónicos y de la AQP4. Sin embargo poco se conoce acerca de la cascada de señalización intracelular que en muchos tipos celulares involucra al calcio ( $Ca^{2+}$ ). El objetivo de este trabajo fue estudiar el rol del  $Ca^{2+}$  y la participación del canal de  $Ca^{2+}$  mecanosensible TRPV4 en el proceso de RVD en la línea derivada de células humanas de Müller MIO-M1. Los cambios en los niveles de  $Ca^{2+}$  intracelular y en el volumen celular fueron estudiados empleando la sonda fluorescente FURA-2 AM en medios iso e hipotónicos en presencia y ausencia de  $Ca^{2+}$  externo y de estimuladores o inhibidores específicos. Los resultados mostraron que durante el swelling osmótico, el  $Ca^{2+}$  intracelular incrementó un 4-5%, de manera independiente del TRPV4, ya que el tratamiento con su inhibidor específico RN1734 no modificó dicho incremento. En medio libre de  $Ca^{2+}$ , este aumento se redujo significativamente pero existe un menor aumento que probablemente se deba a la liberación de  $Ca^{2+}$  desde los depósitos intracelulares. Si bien el RVD mostró ser independiente del  $Ca^{2+}$  extracelular, la depleción de los depósitos intracelulares de  $Ca^{2+}$  con tapsigargina (TG) en medio libre de  $Ca^{2+}$  impidió el RVD. Por otra parte, la activación farmacológica del TRPV4 con el agonista  $4\alpha$ -PDD  $10 \mu M$  produce un gran incremento del  $Ca^{2+}$  intracelular lo que aumenta la eficiencia del RVD. Asimismo, la activación de la entrada de  $Ca^{2+}$  por vaciamiento de depósitos (SOCE) mediante el tratamiento con TG en presencia de  $Ca^{2+}$  extracelular, induce un gran incremento sostenido de  $Ca^{2+}$  intracelular que potencia el RVD. En conjunto estos resultados muestran que, en células de Müller, el proceso de RVD es independiente del influjo de  $Ca^{2+}$  extracelular, sin embargo el  $Ca^{2+}$  intracelular, y en particular, los depósitos sensibles a TG, son esenciales para este proceso. Tanto la activación farmacológica del TRPV4 como la inducción de una SOCE, que generan grandes incrementos de  $Ca^{2+}$  intracelular, potencian el RVD, probablemente activando mecanismos adicionales de regulación de volumen.

**50. CORRIENTES CATIONICAS MEDIADAS POR LA POLICISTINA 2 (TRPP2) EN CÉLULAS EPITELIALES RENALES LLC-PK1.** PL Pérez, MN Scarinci, M Smoler, XQ Dai, MR Cantero, HF Cantiello. Laboratorio de Canales Iónicos, CONICET. Cátedra de Biofísica y Bioestadística, FOUBA.

La policistina-2 (PC2, TRPP2) es un canal catiónico no selectivo que pertenece a la superfamilia TRP (Transient Receptor Potential), cuya disfunción genera la poliquistosis renal autosómica dominante (PQRAD). La PC2 contribuye al transporte de  $Ca^{2+}$  y a la señalización celular en epitelios renales y otros tejidos. La PC2 se ha observado en la membrana celular, el retículo endoplásmico y el cilio primario, ubicación esencial en la génesis de la PQRAD. Estudios previos han determinado la función de la PC2 en células con sobre-expresión heteróloga. Al presente, no existe información sobre la función de la PC2 endógena en la membrana plasmática de las células epiteliales renales. En este estudio, aplicamos la configuración de célula entera, "whole-cell" (W/C) con fijación de voltaje "patch-clamp", e inmunocitoquímica a células de la línea epitelial renal LLC-PK1, para establecer la contribución de la PC2 endógena a la conductancia celular. Las corrientes W/C ligeramente rectificantes en condiciones de alto  $K^+$  intracelular, alto  $Na^+$  externo y  $Ca^{2+}$  externo normal ( $1,2 \text{ mM}$ ), aumentaron en un 38,1% por aumento del  $Ca^{2+}$  externo a  $6,2 \text{ mM}$  ( $9,46 \pm 0,23 \text{ nS/cell}$ ,  $n = 24$  vs.  $13,06 \pm 0,67 \text{ nS/cell}$ ,  $n = 17$ ,  $p < 0,01$ ). Estas corrientes se redujeron en un 65,2% por diálisis intracelular con anticuerpo anti-PC2 activo (contra epítipo C-terminal, PolyFast, Zymed Laboratories, Inc), pero no previamente desnaturalizado por calor. Se confirmó la presencia de PC2 en la membrana plasmática por inmunolocalización de células no permeabilizadas, con anticuerpo anti-PC2 contra epítipo externo de la proteína (#55600, Abcam). La contribución funcional de la PC2 a la conductancia celular observada, se estableció por inhibición de la expresión génica de la PC2 con sondas anti-



sense de ARN contra el exón 3 del ARNm para la producción de la proteína, que produjo una inhibición del 62% en las corrientes W/C. Los datos del presente reporte proveen la primera evidencia experimental de corrientes endógenas de PC2 a nivel de la membrana celular, lo que confirmaría esta vía de influjo de  $Ca^{2+}$  y posible regulación del potencial de membrana celular en células epiteliales de origen renal. La presencia de PC2 funcional en la membrana celular del modelo epitelial renal LLC-PK1 permitirá explorar los posibles mecanismos para la regulación de la PC2 que contribuyen a las disfunciones presentes en PQRAD. Estos estudios pueden también tener importantes implicaciones para la fisiología de las células epiteliales renales.

**51. EFECTO DE LA TOXINA HLYA SOBRE LA HOMEOSTASIS DEL ATP EXTRACELULAR EN GLÓBULOS ROJOS.** <sup>1</sup>M Sacerdoti, <sup>1,2</sup>MF Leal Denis, <sup>3</sup>S Maté, <sup>3</sup>V Herlax, <sup>1</sup>PJ Schwarzbaum, <sup>1</sup>MV Espelt. <sup>1</sup>IQUIFIB-CONICET/UBA. Junín 956. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>UBA. FFyB. Departamento de Química Analítica y Físicoquímica. Cátedra de Química Analítica. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata "Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner" UNLP, CONICET, Facultad de Ciencias Médicas. Calle 60 y 120. La Plata, Argentina. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Médicas. La Plata, Argentina.

El ATP y otros nucleótidos actúan como moléculas de señalización extracelular, actuando sobre receptores purinérgicos autócrina y/o parácrinamente. Esta señalización es modulada por ectonucleotidasas, enzimas que hidrolizan e interconvierten nucleótidos en el espacio extracelular.

Trabajos previos demostraron que la toxina alfa hemolisina (HlyA) secretada por cepas uropatógenicas de *E. coli* inducen la hemólisis por activación de los receptores purinérgicos P2X7. Además, la toxina en el lumen vascular promueve un desbalance osmótico en h-RBCs (glóbulos rojos humanos), induciendo cambios dinámicos en el volumen celular ( $V_r$ ) asociados a una activación de la salida de ATP, generando un aumento en la concentración de ATP extracelular ([ATPe]).

Es por ello que nos proponemos estudiar el efecto de HlyA de *E. coli* sobre cambios dinámicos en [ATPe] y  $V_r$  de h-RBCs, tanto en presencia como ausencia de adhesión a poli-D-lisina. También se determinó la viabilidad celular para evaluar el componente lítico de la salida de ATP.

Células adheridas fueron incubadas con 200 ng/ml, 350 ng/ml o 400 ng/ml de HlyA. Se utilizó microscopía de fluorescencia para medir  $V_r$  y viabilidad, y luciferina-luciferasa para medir ATPe por luminiscencia. Se observó que en los primeros minutos, a todas las concentraciones de HlyA utilizadas, las células sufrieron una disminución del  $V_r$  que luego tornó hacia valores controles iniciales. Posteriormente el  $V_r$  aumentó paulatinamente hasta el final del experimento junto con el aumento de la muerte celular y de [ATPe].

Es destacable que se observa aumento de [ATPe] en ausencia de hemólisis (100% viabilidad), indicando un componente no lítico de la salida de ATP. Cuando las células fueron incubadas con CBX (un inhibidor de la salida de ATP por panexina) en presencia de HlyA, la hemólisis observada fue menor y la acumulación de [ATPe] también.

Con el fin de aproximarnos a condiciones in vivo utilizamos h-RBCs en suspensión a hematocrito 10% y a 37 °C. Se realizaron medidas simultáneas de [ATPe] (luminiscencia) y hemólisis (espectrofotometría). Los h-RBC fueron incubados en presencia o ausencia de HlyA (5ug/ml) durante 5 y 10 min. La presencia de la toxina indujo un aumento de [ATPe] mayor al 200% con respecto al control.

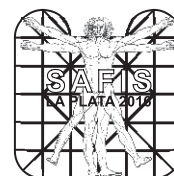
Nuestros resultados indican que la HlyA induce el aumento de ATPe no lítico y lítico en h-RBCs, asociado a cambios dinámicos de  $V_r$ . La inhibición de la salida de ATP por CBX protegería a las células de la hemólisis.

Subsidios: UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187 y PIP639) y ANPCyT (2014-0327), PDS-CIN 193.

## Metabolismo y Nutrición

**52. LA MALNUTRICIÓN PROTEICA DURANTE LA PROGRAMACIÓN FETAL PREDISPONE A SUFRIR NASH Y/O NAFLD EN LA ADULTEZ CON UN MARCADO DIMORFISMO SEXUAL.** <sup>1</sup>SM Echarte, <sup>2</sup>R Abalo, <sup>2,3</sup>E Motta, <sup>2</sup>S Campisano, <sup>1</sup>A Chisari. <sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. <sup>2</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. <sup>3</sup>Servicio de Laboratorio Central; Hospital Dr. Oscar Alende, Mar del Plata.

Estudios recientes demostraron que las consecuencias de una nutrición inadecuada en el útero pueden extenderse a la etapa adulta del organismo.. Estas observaciones llevaron a la formulación de una hipótesis



conocida globalmente bajo el nombre de “fetal programming” (programación fetal); teniendo esos individuos susceptibilidad a padecer diferentes patologías en la etapa adulta. Existiendo una susceptibilidad diferente en la patología según el sexo.

El objetivo fue estudiar el dimorfismo sexual en los efectos de una malnutrición proteica durante la gestación-lactancia, sobre hígado graso y fibroso de los descendientes a los 120 días de edad. Se emplearon ratas Wistar preñadas alimentadas con una dieta con 8% de proteínas. Las crías de madres M, luego del destete, fueron alimentadas con dieta 8% P (MM) o con dieta control (MC). Las crías de madres C luego del destete, fueron alimentadas con dieta 8% P (CM) o con dieta control (CC). Al día 120 post-nacimiento los animales fueron sacrificados, se les extrajo sangre y se disecó el hígado. Se registró el peso corporal y del hígado. Se evaluaron los niveles séricos de las transaminasas (GOT y GPT), proteínas totales (Pt), triglicéridos (TG), colesterol (Col) y glucemia (Glu). La estructura hepática se analizó en cortes histológicos. Hubo diferencias significativamente mayores en CC ( $p < 0,05$ ) con respecto a las tanto en peso corporal como en hígado. Interesantemente el peso corporal de CM fue significativamente superior a debido a la gran cantidad de grasa abdominal acumulada. MM no mostro diferencias en pesos.

En cuanto a los niveles de Col, TG, GOT y GTP fueron significativamente mayor en CM vs ; en cambio en el grupo MC fue mayor que ( $p < 0,05$ ).

La curva de Tolerancia a la glucosa mostró tener áreas mayores significativamente en MM y MC vs ( $p < 0,05$ ). Los preparados histológicos (H&E y Rojo Sirio) presentaron un marcado dimorfismo sexual. Siendo MM y CM los más afectados y MC no evidencia el mismo grado de reversión que .

En conclusión: La falta de proteínas durante el desarrollo, compromete la integridad a nivel estructural y funcional del hígado; que nos permitiría explicar la susceptibilidad a padecer ciertas enfermedades metabólicas según el sexo; que se manifiestan en la adultez.

**53. RELACIÓN ENTRE MASA GRASA, MASA MAGRA Y MINERAL ÓSEO EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS DE SALTA.** MF García Bustos, GRP Pérez Abud, SR Tamayo. Cátedra de Anatomía y Fisiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta.

Introducción: la osteoporosis y la obesidad son dos problemas de salud pública que están creciendo en prevalencia en todo el mundo. Estos trastornos comparten varias características a nivel molecular, clínico y factores de riesgo predisponentes. La masa corporal se compone de tres compartimentos: masa magra (MM), masa grasa (MG), y los huesos. Varios estudios sugieren que la masa corporal está positivamente correlacionada con la densidad mineral ósea (DMO), indicando el efecto beneficioso de la MG sobre la DMO; otros en cambio sostienen que la MM tiene un efecto positivo mayor. Sobre la base de estos conocimientos, no está claro si la MG o la MM tienen el mayor efecto sobre la DMO. Objetivo: estudiar el efecto, en mujeres postmenopáusicas de la Ciudad de Salta, de la MG y MM sobre la DMO. Material y métodos: se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal. La población de estudio fue constituida por mujeres posmenopáusicas de 49 a 75 años pertenecientes a la comunidad universitaria (UNSa) y a otras zonas de la ciudad de Salta, utilizando un muestreo intencional por demanda espontánea. Para recabar parte de los datos necesarios para el estudio, se elaboró un cuestionario, a través del cual se obtuvieron datos generales como la edad, el nivel de instrucción, peso habitual y antecedentes patológicos, así como el tipo de actividad física realizada. Para la obtención de datos sobre composición corporal, se realizaron mediciones antropométricas, e impedancia bioeléctrica. Se determinaron, entre otros parámetros, el porcentaje de grasa corporal, MM y contenido mineral óseo. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis multivariante, utilizando el paquete estadístico SPSS 21.0. Resultados: se reclutaron 53 voluntarias provenientes de las comunidades seleccionadas. Se observó que la mayoría (60,4%) presentó un índice de masa corporal (IMC) mayor a 25, con porcentajes de grasa corporal aumentados. Si bien no se detectó asociación estadísticamente significativa entre las variables estudiadas, mediante el Análisis de Conglomerados, se observó que un gran porcentaje (89,5%) de las mujeres con un IMC normal, y masa muscular (magra) normal o disminuida, presentaron valores bajos respecto a la composición mineral ósea. Conclusiones: estos resultados podrían estar indicando la existencia de un efecto protector, ya sea de la MM o de la MG sobre la DMO. Sin embargo, para confirmarlo, será necesario ampliar la muestra.





**54. LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE UNA MEZCLA ANTIOXIDANTE PREVIENE EL INCREMENTO DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA EN RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO EXPERIMENTAL POR FRUCTOSA.** LM Linares, ML Wallinger, V Zuccarella, PN Viglione, OJ Ponzo, CF Reyes-Toso. Depto de Ciencias Fisiológicas, UAII Facultad de Medicina. UBA.

El síndrome metabólico (SM) es una entidad multifactorial que predispone a enfermedad cardiovascular y diabetes mellitas. Este trabajo tuvo por finalidad comparar los efectos de la administración de distintos antioxidantes sobre algunos parámetros metabólicos y los niveles de presión arterial sistólica (PAS) en el modelo de SM por consumo crónico de fructosa (F). Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar, que se dividieron en 4 grupos experimentales en función de la dieta y de la presencia o ausencia de antioxidantes: 1- control (C) con dieta y bebida estándar; 2- F con dieta estándar y agua con F al 10%; 3- F con mezcla antioxidante (Fma) (vitaminas E y C -vE y vC- 50mg/día c/una; ácido lipoico 50mg/día, selenio 0.15mg/día; y zinc 1.5 mg/día); 4- F con vE (50 mg/día) (FvE). Se controló periódicamente la evolución del peso, el consumo de dieta y bebida, la PAS, glucemia basal, perfil lipídico y peroxidación lipídica -TBARS- en plasma; y al finalizar la experiencia (20 semanas) prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG), insulinemia, TBARS en plasma e hígado y perfil lipídico. Los datos se analizaron con un ANOVA, considerándose significativa una  $p < 0.05$ . Si bien ambos tipos de suplementos antioxidantes previnieron el incremento de la trigliceridemia (F vs Fa  $p < 0.001$ ; F vs FvE  $p < 0.01$ ), Fma mostró valores comparables con los C (C vs Fma, ns), existiendo diferencia entre Fma vs FvE ( $p < 0.05$ ). Además Fma previno también el incremento de la colesterolemia (C vs Fma, ns). La insulinemia no se vio alterada por ninguno de los suplementos, pero la PTOG presentó mejoras en los grupos Fma y FvE en alguno de los tiempos estudiados (F vs Fma y F vs FvE  $p < 0.05$  a los 30 minutos). Los TBARS en plasma mostraron diferencias significativas a las 6 semanas para Fma ( $p < 0.05$ ) y a las 15 para ambos (F vs Fma  $p < 0.001$ ; F vs FvE  $p < 0.01$ ). La diferencia más interesante reside en que la mezcla antioxidante previno el aumento de la PAS (F vs Fma  $p < 0.01$  a las 10 semanas y  $p < 0.001$  a las 15 y 20 semanas), a diferencia de la vE. Se concluye que la administración simultánea de nutrientes con actividad antioxidante prevendría de manera más eficiente la aparición de complicaciones cardiovasculares y metabólicas por consumo crónico de fructosa en las ratas, que la suplementación con un solo antioxidante. Este efecto se produciría posiblemente por potenciación de las acciones de los mismos.

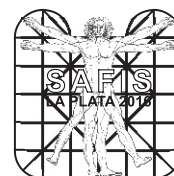
**55. ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO PILOTO EN ESTUDIANTES DE LA CARRERA DE MEDICINA DEL INSTITUTO UNIVERSITARIO ITALIANO DE ROSARIO.** <sup>1</sup>MR Marusso Fizzani, <sup>1</sup>F Maiz, <sup>1</sup>FT Ruiz, <sup>1</sup>TF Pellizzer, <sup>1</sup>S Lelli, <sup>2</sup>ER Ricelli da Rocha, <sup>1</sup>CD De La Vega Elena, <sup>1</sup>G Venera. <sup>1</sup>Instituto Universitario Italiano de Rosario. <sup>2</sup>Universidade Alto Vale do Rio do Peixe.

El sobrepeso y la obesidad son causas de morbimortalidad por su asociación con enfermedad coronaria, osteoartritis, diabetes mellitus, hipertensión, dislipemias, entre otras. En Argentina, la prevalencia de sobrepeso en la población general aumenta de forma alarmante y hay escasa información respecto a la malnutrición de estudiantes universitarios. El objetivo de este estudio fue describir el estado nutricional, la prevalencia de sobrepeso y la obesidad en estudiantes de segundo año de la carrera de Medicina del Instituto Universitario Italiano de Rosario. El peso y la talla se midieron según métodos estandarizados. El estado nutricional fue evaluado por el Índice de Masa Corporal (IMC) y el porcentaje de Masa Grasa (% MG), utilizando la clasificación de la International Obesity Taskforce de la OMS. La muestra estuvo conformada por 31 estudiantes entre 19 y 25 años; 45,2% mujeres y 54,8% hombres. Se empleó el test chi-cuadrado para el estudio de la asociación de variables cualitativas.

Considerando aisladamente el IMC, el 71,4% de las mujeres y el 47,1% de los hombres mostraron un estado nutricional normal ( $p < 0.16$ ). La prevalencia de malnutrición en ambos sexos fue de 41,9%, siendo mayor el exceso (35,5%) que el déficit (6,5%) de peso. Se observó peso debajo del normal en el 14,3% de las mujeres. El 52,9% de los varones y el 14,3% de las mujeres presentaron sobrepeso ( $p < 0.03$ ).

El porcentaje de Masa Grasa estuvo dentro de los valores esperados para el nivel de actividad física en el 92,5% de las mujeres y en el 82,4% de los hombres.

Los resultados preliminares del estudio muestran una prevalencia aumentada de malnutrición de una población joven universitaria que justifican continuar la investigación en forma transversal y longitudinal, aumentando la población y registrando la evolución desde primero a sexto año.



**56. EFECTOS DE MELATONINA Y AGOMELATINA EN DOS MODELOS EXPERIMENTALES DE SÍNDROME METABÓLICO INCIPIENTE Y DEFINIDO DESARROLLADOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE FRUCTOSA EN EL AGUDA DE BEBIDA.** PA Scacchi Bernasconi, B Zambudio, N Pellegrini, G Busch, J Torres Batán, P Scacchi, RM Reynoso. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Departamento de Fisiología.

El síndrome metabólico (SM) se caracteriza por hipertensión, hiperglucemia, sobrepeso y alto riesgo de infarto cerebral y de miocardio. La melatonina (MT), hormona producida por la pineal, tiene propiedades cronobióticas, inmunológicas, citoprotectoras y metabólicas. La agomelatina (AGOM), agonista de los receptores MT1, MT2 y 5-HT tipo 2c, posee efectos anti-depresivos.

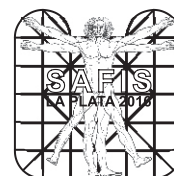
El objetivo fue evaluar cambios de TA y parámetros bioquímicos de ratas hembras, producidos por la administración de fructosa y analizar si MT y la AGOM impiden dichos cambios. Ratas hembras adultas recibieron en el agua de bebida durante 60 días los siguientes tratamientos: FRUC10 y FRUC20, fructosa 10% y 20% p/v respectivamente; MT, 25ug/ml; AGOM, 50ug/ml. Los grupos estudiados fueron (n= 8): CONTROL, MT, AGOM, FRUC10, FRUC10-MT, FRUC10-AGOM, FRUC20, FRUC20-MT y FRUC20-AGOM. Se midió la TA y se efectuó una curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (CTGip), 2g glucosa/kg. Se recolectó sangre troncal para determinar TG, colesterol total (COL) y col-HDL. El análisis de la CTGip mostró valores mayores de glucemia a los 30 minutos en FRUC10 ( $305 \pm 30$ mg/dL) respecto al CONTROL ( $391 \pm 29$ mg/dL,  $p < 0,012$ , global  $p < 0,001$ , Factor Metabólico (FMetab)  $p < 0,001$ , Factor Tiempo  $p < 0,001$ ). Aunque, la glucemia en el grupo FRUC20 ( $402 \pm 27$ mg/dL) no se modificó respecto al CONTROL, hubo diferencias entre FRUC10 y FRUC20 ( $p < 0,035$ ). El peso corporal aumentó en los animales FRUC10 ( $341 \pm 8,7$ g) y FRUC20 ( $342 \pm 13$ g; CONTROL:  $309 \pm 8,2$ g; FMetab  $p < 0,001$ ). La TA aumentó en FRUC10 ( $151 \pm 3,7$ mmHg,  $p < 0,001$ ) y FRUC20 ( $138 \pm 3,6$ mmHg,  $p < 0,001$ ) en comparación al CONTROL ( $112 \pm 3,7$ ; global  $p < 0,001$ , FMetab  $p < 0,001$ , FProtec  $p < 0,001$ ). A su vez, en los grupos FRUC10-MT ( $127 \pm 3,7$ mmHg,  $p < 0,001$ ) y FRUC10-AGO ( $124 \pm 4,2$ mmHg,  $p < 0,001$ ) disminuyó la TA con respecto a FRUC10. FRUC10 ( $81 \pm 3,1$ mg/dL) y FRUC20 ( $99 \pm 5,1$ mg/dL) aumentaron el COL versus CONTROL ( $62 \pm 2,4$ mg/dL; global  $p < 0,001$ ; FProtección  $p < 0,047$ ; FMetab  $p < 0,0001$ ). Tanto la MT ( $66 \pm 4,1$ mg/dL) como la AGOM ( $76 \pm 3,4$ mg/dL) impidieron el aumento del mismo en FRUC20. El análisis de col-HDL mostró que tanto con FRUC10 ( $44,7 \pm 1,9$ mg/dL,  $p < 0,03$ ) como con FRUC20 ( $54,9 \pm 2$ mg/dL,  $p < 0,001$ ), aumentó respecto al CONTROL ( $36,2 \pm 1,2$ mg/dL; global  $p < 0,001$ , FMetab  $p < 0,001$ ) como así también entre ellos ( $p > 0,001$ ). El análisis ad hoc mostró que el agregado de MT ( $42,8 \pm 1,8$ mg/dL,  $p < 0,001$ ) o AGOM ( $45,8 \pm 2$ mg/dL;  $p < 0,032$ ) al tratamiento con FRUC20 impidió el aumento del col-HDL. Los TG aumentaron con FRUC20 ( $194 \pm 31,8$ mg/dL vs CONTROL:  $86 \pm 15$ mg/dL,  $p < 0,001$ ; FMetab,  $p < 0,016$ , Factor Protector:  $p < 0,001$ ) pero no con FRUC10 ( $105 \pm 14,8$ mg/dL) vs CONTROL. En conclusión, los animales tratados con FRUC10 desarrollaron un SM incipiente y el tratamiento con FRUC20 un SM definido. La melatonina y la agomelatina revirtieron algunos de sus signos.

### **Fisiología Renal**

**57. EFECTOS DE DIAZEPAM SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA DE ESTRÉS TÉRMICO HSP70 EN RIÑONES DE RATAS DIABÉTICAS.** P Rossi, S Molinas, G Pisani, L Trumper, L Monasterolo. Farmacología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. CONICET.

Se han reportado efectos beneficiosos de ligandos de la proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) en distintos modelos de daño renal. En este trabajo se propuso evaluar los efectos de una droga ligando TSPO utilizada en la clínica, diazepam, sobre parámetros funcionales, estructurales y bioquímicos y sobre la expresión de HSP70 en riñones de ratas diabéticas.

Ratas Wistar macho adultas recibieron 50mg/Kg de estreptozotocina (STZ) i.p. o su vehículo (C). Luego de una semana se comenzó el tratamiento con diazepam (DZ) i.p. 3mg/Kg/día; y una semana más tarde se realizaron los experimentos. Se realizaron estudios convencionales de clearance y se obtuvieron los riñones para cortes histológicos (H&E, PAS, Direct Red 80); determinación de niveles de malondialdehído (MDA), como índice de lipoperoxidación, y expresión de la proteína HSP70 por Western blot. Se realizó el análisis estadístico de los resultados (promedio  $\pm$  SEM; \* $p < 0,05$ ).



DZ no modificó la glicemia (g/l) en animales controles o diabéticos (C=  $1.55 \pm 0.7$ ; STZ=  $3.87 \pm 1.5^*$ ). La expresión de HSP70 se encontró aumentada en los riñones STZ respecto a los controles. La administración de DZ indujo una disminución en los niveles de HSP70 (intensidad bandas HSP70/Rojo Ponceau, unidades arbitrarias) en el grupo STZ (C=  $6.9 \pm 1.1$ ; C+DZ=  $9.4 \pm 0.5$ ; STZ=  $11.6 \pm 0.3^*$ ; STZ+DZ=  $4.3 \pm 0.8\#$ ; \* $p < 0.05$  vs C; # $p < 0.05$  vs STZ). DZ normalizó los valores disminuidos de clearance de creatinina (ml/h/g riñón) (C=  $67.9 \pm 3.6$ ; C+DZ=  $71.4 \pm 2.4$ ; STZ=  $52.4 \pm 3.5^*$ ; STZ+DZ=  $73.8 \pm 6.6\#$ ; \* $p < 0.05$  vs C; # $p < 0.05$  vs STZ) y disminuyó la excreción urinaria de  $\gamma$ GT(U/mg creatinina) (C=  $3.7 \pm 0.4$ ; C+DZ=  $3.4 \pm 0.7$ ; STZ=  $15.3 \pm 2.9^*$ ;  $6.3 \pm 1.4\#$ ; \* $p < 0.05$  vs C; # $p < 0.05$  vs STZ) en animales diabéticos. El tratamiento con DZ no modificó los niveles de MDA(nmol/mg prot.) (C=  $1.36 \pm 0.13$ ; STZ=  $2.25 \pm 0.19^*$ ), ni las alteraciones histopatológicas inducidas por diabetes en tejido renal (lesiones glomerulares focales con expansión mesangial, ligero engrosamiento de membranas basales de algunos túbulos proximales). En este estadio temprano de diabetes se observa un aumento en la expresión de HSP70 renal, que revierte con la administración de diazepam. Esta disminución en HSP70 se asocia a mejoría en algunos parámetros renales. Si bien se han demostrado propiedades citoprotectoras para esta chaperona, recientemente se ha descrito la activación del eje HSP70-Toll-like receptor 4 y consecuente empeoramiento de la nefropatía diabética temprana. Las acciones de DZ sobre esta vía requieren futuras investigaciones. CONICET-PIPO309.

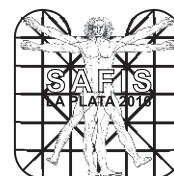
**58. EFECTOS DE ESTRADIOL EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS EPITELIALES DE LA CORTEZA RENAL HUMANA.** <sup>1</sup>D Sánchez, <sup>1</sup>LB Márquez, <sup>1</sup>FR Ibarra, <sup>1</sup>C Silberstein. Dpto de Ciencias Fisiológicas, IFIBIO Houssay- CONICET, Facultad de Medicina, UBA. <sup>1</sup>Dpto de Ciencias Fisiológicas, IFIBIO Houssay- CONICET, Facultad de Medicina, UBA.

Hay evidencias de que la función ovárica tiene efectos protectores sobre el riñón, debido a las hormonas sexuales femeninas. En estudios previos, demostramos que el tratamiento con estradiol estimuló la tasa de proliferación celular en cultivos primarios de células epiteliales tubulares de la corteza renal humana (CERH), vía los receptores ER. Los túbulos renales tienen la capacidad de regenerarse, y el mecanismo de proliferación celular forma parte del proceso de regeneración. La dopamina renal estimula la natriuresis vía los receptores D1R y también se ha propuesto que podría tener un efecto protector en el riñón. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de estradiol sobre la regulación de la expresión de los receptores de dopamina D1R en cultivos primarios de CERH y evaluar si la regulación de los receptores D1R pueden tener efecto sobre la proliferación renal. Para ello, se desarrollaron cultivos primarios de CERH a partir de nefrectomías realizadas en el Hospital Nacional Prof. A. Posadas, y se evaluó la tasa de proliferación celular por incorporación de bromodeoxiuridina y la expresión del D1R por western blot. Se observó que la incubación de las CERH con  $17\beta$ -estradiol ó benzoato de estradiol (10 nM, 24 hs) estimuló significativamente la expresión del D1R ( $p < 0,05$ ,  $n=3$ ) mientras que la testosterona no modificó significativamente su expresión. La incubación de las CERH con SCH23390 ( $1 \mu M$ ), antagonista del D1R, inhibió significativamente la proliferación celular con respecto a las células control ( $p < 0,05$ ,  $n=3$ ), inclusive en presencia de  $17\beta$ -estradiol. En conclusión, los cultivos primarios de CERH expresan el receptor de dopamina D1R, el cual puede ser regulado por estradiol. La regulación del D1R podría incidir en la proliferación de CERH, lo cual podría estar implicado en la regeneración del epitelio de los túbulos renales.

## Oncología

**61. LA HORMONA DE CRECIMIENTO MODULA LOS NIVELES DE GALECTINA-1 EN EL HÍGADO TUMORAL.** ML Bacigalupo, VG Piazza, S Otero, AI Sotelo, JG Miquet, MF Troncoso. Instituto de Química y físico-química biológicas (IQUIFIB), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Alteraciones metabólicas tales como obesidad, resistencia a insulina y enfermedad del hígado graso no alcohólico constituyen factores de riesgo del carcinoma hepatocelular (HCC), el tipo más común de cáncer hepático. Galectina-1 (Gal1), proteína que une  $\beta$ -galactósidos, está sobreexpresada en el HCC. Dicha sobreexpresión se asocia a una mayor invasión tumoral, metástasis, y menor supervivencia de los pacientes. Anteriormente describimos que la sobreexpresión de Gal1 en células de HCC humano HepG2-C3A induce la transición epitelio-mesénquima, y promueve el crecimiento tumoral y metástasis in vivo. Recientemente, se describió un rol de Gal-1 en la acumulación de lípidos en el hígado de ratones sometidos a hepatectomía parcial.



La hormona de crecimiento (GH) regula el crecimiento corporal y el metabolismo. Ratones transgénicos que sobreexpresan GH (GHTg) muestran un tamaño corporal aumentado, organomegalia, y alteraciones endócrinas y metabólicas, como resistencia a insulina en el hígado. Los ratones GHTg adultos jóvenes presentan una patología hepática preneoplásica similar a la observada en pacientes humanos con alto riesgo de contraer cáncer de hígado y, en edades avanzadas, estos animales desarrollan tumores hepáticos.

Para investigar una posible interrelación entre Gal1 y la GH en el desarrollo del cáncer hepático nuestro objetivo fue estudiar la expresión de Gal1 en respuesta a la GH in vivo e in vitro.

Demostramos que la expresión de Gal1 se encuentra drásticamente aumentada en el hígado de ratones GHTg a nivel de ARNm (PCR en tiempo real) y de proteína (Western blot, Wb), tanto en adultos jóvenes (2-3 meses, n=8, n=9) como de edad avanzada (11-14 meses, n=13, n=8). Además, detectamos un incremento en la expresión de Gal1 en los tumores hepáticos de ratones GHTg de edad avanzada con respecto a zonas no tumorales en ambos sexos ( $p < 0,01$ , n=21).

Para analizar el efecto de la GH sobre la expresión de Gal1 in vitro, las células de HCC HepG2-C3A se incubaron con dicha hormona ( $1\mu\text{g/ml}$ ). Se observó un aumento de los niveles de Gal1 a tiempos cortos, alcanzando el máximo a los 30 minutos ( $188 \pm 50\%$ ,  $p < 0.05$ , n=4, Wb), mientras que mayores tiempos de incubación (6 y 24 h) no modificaron los niveles de la galectina.

Estos resultados constituyen la primera evidencia que muestra que la GH modula los niveles de Gal1 en tumores de hígado. Además, sugieren que ambas proteínas podrían promover en forma sinérgica el desarrollo y progresión del HCC.

## **62. LA RESTRICCIÓN DE GLUCOSA POTENCIA EL EFECTO DE METFORMINA SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y MIGRACIÓN DE CÉLULAS DERIVADAS DE HEPATOCARCINOMA. AC Ferretti, F Hidalgo, F Tonucci, E Almada, MC Larocca, C Favre. IFISE-CONICET, UNR.**

En los últimos años AMPK se ha consolidado como una quinasa anti-oncogénica, y su disfuncionalidad se encuentra asociada al desarrollo del hepatocarcinoma. Es por esto que numerosos estudios apuntan a esta quinasa como un blanco prometedor para la terapia antitumoral. En este sentido, recientemente demostramos que la activación de AMPK es central en el arresto del ciclo celular y muerte apoptótica inducidos por restricción de glucosa en células de HCC. Describimos, además, que la falta de glucosa induce simultáneamente la activación de AMPK y PKA, y que PKA fosforila a AMPK $\alpha$ (Ser173) provocando su inhibición y previniendo la muerte apoptótica (Ferretti AC et al. Oncotarget 2016).

Dado que se ha demostrado que el activador de AMPK metformina inhibe a PKA en células hepáticas, proponemos que la restricción de glucosa en combinación con metformina podría potenciar los efectos de la activación de AMPK en células derivadas de HCC.

En el presente trabajo, determinamos viabilidad y migración de células HepG2/C3A y HuH-7 tratadas con metformina (Met) o AICAR en condiciones control (C) o con restricción de glucosa (RG) durante 24 h. Mediante el ensayo de MTT demostramos que el tratamiento con metformina (1 a 50mM) disminuyó el porcentaje de células viables, y este efecto fue potenciado en ausencia de glucosa (HuH-7: RG: 54,2\*; Met (5mM): 60,8\*; RG+Met (5mM): 35,2\*\* % de viabilidad vs. C, n=6). Por otro lado, mediante la realización de ensayos de "wound-healing" demostramos que la activación de AMPK con metformina o AICAR previene la migración celular tanto en células C3A como en HuH-7. Nuestros resultados también indicaron la potenciación del efecto de metformina en la migración al incubar las células en medio libre de glucosa (HuH-7: RG: 49,4\*; Met (1mM): 32,9\* y RG+Met (1mM): 69,5\*\* % de inhibición de la migración vs. C, n= 3). En concordancia con estos resultados, observamos por microscopía de inmunofluorescencia que el tratamiento con metformina indujo un aumento en el porcentaje de células C3A con canalículos, lo cual es consistente con un aumento en la diferenciación celular.

En conclusión, demostramos que la eficiencia de metformina en inhibir el crecimiento y la migración en células de hepatocarcinoma es potenciada por restricción de glucosa. Estos hallazgos nos permiten poner expectativas en estudiar el empleo de la intervención dietaria en combinación con el activador de AMPK metformina para el tratamiento del HCC. (\* $P < 0,01$  vs. C, \*\* $P < 0,01$  vs. Met).

## **63. ESTUDIO BIBLIOMÉTRICO SOBRE LA PRODUCCIÓN CIENTÍFICA ARGENTINA SOBRE CÁNCER A TRAVÉS DE LAS BASES DE DATOS MEDLINE Y LILACS. <sup>1</sup>RP Juárez, <sup>2</sup>RM Barrere. <sup>1</sup>Facultad de Odontología. Universidad Nacional**



del Nordeste.<sup>2</sup>CENTRO REDES. CONICET.

El presente estudio describe una aproximación al análisis de la investigación sobre cáncer durante los años 2001-2010, mediante la visualización de la producción científica disponible en MEDLINE y LILACS.

Se realizó una investigación bibliométrica con diseño descriptivo, cuyos objetivos principales fueron: describir la producción científica escrita sobre cáncer en Argentina y generar una línea de investigación documental que sirva como insumo de base para la gestión de políticas de C&T y políticas de salud referidas al cáncer.

Se analizaron indicadores bibliométricos de productividad (documentos publicados, idiomas, autoría, e índices de productividad y colaboración); estructura (tipo de documento), núcleo principal de Bradford, tipos de investigaciones, localización del cáncer en el cuerpo e indicadores de mortalidad.

En MEDLINE, se registraron 1132 documentos con un promedio de 5 autores. El idioma predominante fue el inglés. El núcleo de Bradford estuvo conformado por 37 revistas con 379 publicaciones. Se identificaron 78 ensayos clínicos y 24 estudios multicéntricos. Los cánceres más estudiados fueron cáncer de mama, hematológico, piel, colon y recto, pulmón, orofaríngeo, sistema nervioso, útero. El Instituto de Oncología Ángel H. Roffo (UBA) fue la institución más productiva (71 documentos).

En LILACS, se registraron 824 documentos con un predominio de autoría simple. El idioma predominante fue el español. El núcleo de Bradford estuvo conformado por cuatro revistas con 291 publicaciones. Se identificaron 5 ensayos clínicos y un estudio multicéntrico. Los cánceres más estudiados fueron de mama, colon y recto, piel, orofaríngeo, pulmón, útero. El Hospital Italiano (CABA) fue la institución más productiva (86 documentos).

La investigación en cáncer en Argentina se está incrementando, existe una fuerte producción en las Universidades Nacionales (MEDLINE), Hospitales nacionales y provinciales (LILACS), con importante participación en investigaciones observacionales descriptivas.

En este marco, mediante la medición y el análisis de la evidencia disponible a través de las publicaciones, se contribuye al conocimiento de la situación y tendencias de la investigación en cáncer, como también propiciar al desarrollo de una cultura de utilización de los indicadores bibliométricos como instrumentos de diagnóstico y prospección en el área de la oncología como elementos para la acción en busca de una mayor gestión en salud.

Palabras claves: bibliometría, cáncer, producción científica, Argentina.

# REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

## Jueves 6 de Octubre: SESIÓN DE POSTERS 1

### Cardiovascular y Respiratorio 1 -

Coordinador Romina Gisel Díaz

1. Estudio dosis-respuesta de la proteína High movilita grupo box-1 (HMGB1) y sus efectos sobre la función ventricular izquierda en un modelo ovino de infarto de miocardio. **MR Bauzá**, CS Giménez, P Locatelli, A De Lorenzi, S Wray, LA Cuniberti, FD Olea, A Crottogini.
2. La reperfusión ácida disminuye el tamaño del infarto en el corazón aislado de rata: quinasas involucradas. **A Ciocci Pardo**, LF González Arbeláez, JC Fantinelli, SM Mosca.
3. La activación del receptor GPR30 inhibe la hipertrofia cardiaca inducida por la aldosterona. **RA Di Mattía**, EA Aiello, A Orlowski.
4. Efecto de la melatonina sobre la heterogeneidad ventricular y las arritmias de reperfusión en corazones de ratas in situ. **ER Diez**, K Sedova, NJ Prado, T Brennan, RM Miatello, AZ Ponce Zumino.
5. El tratamiento crónico con sildenafil (SIL) induce regresión de la hipertrofia miocárdica en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). **DS Escudero**, RG Díaz, MS Brea, E Portiansky, NG Pérez.
6. Rol fisiológico de la retroalimentación entre el cotransportador sodio/bicarbonato (NBC) y la Adenilato Ciclasa Soluble (SAC) en el corazón. **MS Espejo**, A Orlowski, MC Ciancio, EA Aiello, VC De Giusti
7. Simulación de la insuficiencia cardiaca basada en efectos sobre el miocito utilizando un modelo del sistema circulatorio. **Jl Felice**, El Cabrera-Fischer, S Kosta, PC Dauby, EC Lascano, JA Negroni.
8. La hormona estimulante de la tiroides (TSH) consigue modular directamente la actividad eléctrica cardíaca. **MJ Fernández Ruocco**, H Alonso, M Gallego, B Farjun, Y Schleier, O Casis, E Medei.
9. Rol de la anhidrasa carbónica y transportadores iónicos en la cardiomiopatía diabética. **C Jaquenod De Giusti**, FE Carrizo Velázquez, PG Blanco, JM Lofeudo, BV Alvarez.
10. Señalización inducida por el estrés del retículo endoplásmico durante la isquemia y reperfusión miocárdica. **Jl Mariangelo**, R Becerra, B Román, L Vittone, M Salas, M Said, C Mundiña-Weilenmann.
11. Prevención de la hipertrofia cardíaca y el estrés oxidativo inducidos por angiotensina II mediante el silenciamiento miocárdico selectivo del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE-1). **AJ Medina**, CI Caldiz, IL Ennis
12. Impacto del clampeo arterial sobre la rigidez arterial cuantificada a través del índice de aumentación y la dimensión fractal de la presión arterial durante cirugías vasculares. **MT Politi**, SA Wray, JM Fernández, J Gaudric, A Ghigo, PY Lagrée, C Capurro, JM Fullana, R Armentano.
13. El aumento de la defensa antioxidante por sobre-expresión de Tiorredoxina 1 (TRX1) cancela el desarrollo de la Segunda Fase de Fuerza (SFF). **MR Zavala**, RG Díaz, M Donato, R Gelpi, NG Pérez, MC Villa-Abrille.

### Gastroenterología

Coordinador: Claudia Silberstein

14. La inducción de hemoxigenasa 1 previene la injuria colestásica oxidativa en la rata. **P Ceccatto**, CD Ocampo Alzate, SM Arriaga, AC Boaglio, EJ Sánchez Pozzi, AD Mottino, MG Roma, CL Basiglio.
15. El colesterol regula la expresión de la aquaporina-8 mitocondrial en células hepáticas humanas HUH-7. **M Danielli**, AM Capiglioni, J Marrone, RA Marinelli.
16. Modulación de P-glicoproteína por el fitoestrógeno genisteína (GNT) en hígado e intestino de rata. **M Semeniuk**, LI Ceré, N Ciriaci, GN Tocchetti, VA Catania, JP Rigalli, M Ruiz.
17. Perfil electroforético de proteínas presentes en la saliva de edéntulos parciales. **GN Gómez**, CP Serrano, RP Juárez.
18. Electroforesis de Saliva en acetato de celulosa (Cellogel) utilizando la técnica de liofilización como método de concentración de proteínas. **CP Serrano**, GA Ojeda, RP Juárez.



## Endócrino y Reproducción

**Coordinador: Verónica De Giusti**

- 19.** Implicancias del factor inducible por hipoxia (HIF) en la regulación de sustancias vasoactivas en la placenta humana. Participación del sistema endocannabinoide. **C Aban**, T Etcheverry, G Leguizamón, D Trigubo, A Franchi, N Martínez, M Farina.
- 20.** Balance entre proliferación y apoptosis en el hígado de ratones con Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1) tratados con la droga carcinogénica Dietilnitrosamina (DEN). **A Arboatti**, F Lambertucci, MG Sedlmeier, G Pisani, MC Carrillo, ML Alvarez, D Francés, MT Ronco, C Carnovale.
- 21.** La hipoxia/reoxigenación induce daño nitrosativo y oxidativo en el sinciciotrofoblasto de placenta humana. **M Di Paola**, N Szpilbarg, MN Sierra, C Anud, B Maskin, N Martínez, M Castro Parodi, AE Damiano.
- 22.** Mecanismos epigenéticos inducidos por estrés oxidativo en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con Enfermedad de Graves. **R Macri Delbono**, M Costilla, A Klecha, M Saban, M Curria, M Dicugno, C Asensio, G Cremaschi, ML Barreiro Arcos.
- 23.** Alteraciones en la foliculogénesis inducidas por la exposición temprana a Bisfenol A en ratas adultas. **F Plenkovic**, N Contrera Rolón, V Canzani, A Seyahian, PA Scacchi Bernasconi, O Ponzio, R Reynoso.
- 24.** La tensión de oxígeno regula la expresión de AQP4 en placenta humana. **N Szpilbarg**, M Di Paola, A Sehayian, J Reppetti, N Martínez, A Damiano.
- 25.** El estrés hiperosmolar altera la proliferación y la migración de células de trofoblasto de primer trimestre: rol de TRPV-1. **J Reppetti**, A Sehayian, N Beltramone, N Szpilbarg, M Farina, AE Damiano, N Martínez.

## Neurofisiología

**Coordinador: Margarita Salas**

- 26.** Efecto de la taurina, un componente de las bebidas energizantes, sobre la función motora en un modelo experimental de resaca alcohólica. **S Carbone**, A Karadayián, A Czerniczyniec, S Lores-Arnaiz, RA Cutrera.

## Fisiología Celular 1

**Coordinador: Alejandra Yeves**

- 27.** Participación de AKAP350, EB1 y p150glued en el mantenimiento de la polaridad epitelial. **E Almada**, F Tonucci, AC Ferretti, F Hidalgo, R Vena, C Favre, MC Larocca.
- 28.** Efectos del exceso de hormonas tiroideas sobre la diferenciación neuro-glio-vascular durante la regeneración retiniana de zebrafish adulto. **CA Bejarano**, MP Faillace.
- 29.** Regulación dinámica de ATP extracelular en Escherichia coli. **CL Alvarez**, G Corradi, N Lauri, I Marginedas Freixa, MF Leal Denis, N Enrique, SM Maté, V Milesi, MA Ostuni, V Herlax, P Schwarzbaum.
- 30.** Proliferación dependiente de Acuaporina 2 (AQP2) en un modelo de células principales de túbulo colector cortical renal: las mpkCCDc14. **G Di Giusto**, MJ Christensen, APizzoni, P Ford, C Capurro, V Rivarola.
- 31.** Salida de ATP en eritrocitos humanos frente a péptidos de interés fisiológico y fisiopatológico. **LZ Gross**, S Venerus Arbilla, N Lauri, CL Alvarez, L Nievez, P Schwarzbaum, MF Leal Denis.
- 32.** Regulación dinámica del volumen celular y del ATP extracelular en eritrocitos humanos. **MF Leal Denis**, N Lauri, CL Alvarez, P Schwarzbaum.

## Sangre e Inmunidad

**Coordinador: Claudia Caldiz**

- 59.** Efectos del estrés crónico sobre el estado oxidativo y la funcionalidad eritrocitaria en ratas viejas. **M Onoriaga**, S Binotti, H Scoppa, A Stagnoli, M Farías, N Bensi, A Nieblyski.
- 60.** Parámetros hemorreológicos y marcadores protrombóticos en ratas viejas sometidas a estrés crónico. **H Scoppa**, S Binotti, A Echeagaray, N Bensi, A Nieblyski.

## REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA

La Plata - Buenos Aires - Argentina

### Viernes 7 de Octubre: SESIÓN DE POSTERS 2

#### Cardiovascular y Respiratorio 2

Coordinador: Matilde Said

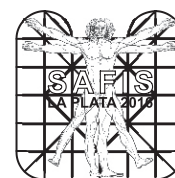
- 33.** La cardioprotección observada después de la administración aguda de un extracto de copoazú es mediada por la activación de eNOS. **JC Fantinelli**, LF González Arbeláez, A Ciocci Pardo, N Cuellar Álvarez, P Galeano, B Rojano, GR Schinella, SM Mosca.
- 34.** Estudio del sistema renina angiotensina y de la función cardíaca en ratas machos expuestas a la deficiencia moderada de zinc durante la vida prenatal y postnatal. **N Gobetto**, M Aladro, L Juriol, F Mendes Garrido, L Gonano, M Morell, M Gironacci, C Caniffi, R Elesgaray, M Vila Petroff, A Tomat, C Arranz.
- 35.** Influencia de los ácidos grasos sobre el papel desempeñado por la kinasa activada por AMP (AMPK) en aurículas aisladas de ratas sometidas a isquemia reperfusión simuladas (Is Rs). **R Hermann**, MM Fernández Pazos, V Mestre Cordero, F Reznik, D Vélez, E Savino, MG Marina Prendes, A Varela.
- 36.** La activación del receptor GPER regula la actividad mecánica y eléctrica del miocardio. **MS Espejo**, AM Ibañez, G Mazzocchi, EA Aiello, VC De Giusti.
- 37.** Cardiomiocitos ovinos adultos muestran expresión incrementada del regulador negativo del ciclo celular meis1, un posible blanco de terapia génica para la regeneración cardíaca. **P Locatelli**, CS Giménez, FD Olea, MR Bauzá, M Uranga Vega, L Cuniberti, D Ghiringhelli, A Crottogini, MN Belaich.
- 38.** Modulación por el ejercicio de la evolución de la señal de Wnt en el corazón durante el envejecimiento. **FA Marchese**, JM Gallino F, EA García G.
- 39.** La protein-quinasa dependiente de AMP (AMPK) activa eNOS y nNOS durante el estrés hiperosmótico promoviendo la liberación de Óxido Nítrico (NO). Impacto del NO en la función contráctil. **M Morell**, JI Burgos, LA Gonano, M Vila Petroff.
- 40.** Moscas fumadoras de tabaco y cardiopatías. Efecto de la nicotina en la función cardíaca de Drosophila melanogaster. **L Morro**, B Brugo, A Villegas, R Fernández, N Beltrame, A Icardi, A Mattiazzi, M Santalla, CA Valverde, P Ferrero.
- 41.** Caracterización funcional de los mecanismos alcalinizantes de los cardiomiocitos knockout para el cotransportador Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub>-electroneutro (NBCn1ko/ko). **A Orłowski**, EA Aiello, E Boedtkjer.
- 42.** Efecto funcional de la oxidación del canal liberador de calcio (RyR2) durante la reperfusión miocárdica post-isquémica. **B Román**, R Becerra, JI Mariangelo, MA Salas, LB Vittone, C Mundiña-Weilenmann, M Said.
- 43.** Protección contra el daño miocárdico por Isquemia-Reperfusión (I-RP) en el tratamiento agudo con rosuvastatina (R). **D Vélez**, V Mestre Cordero, M Barreda Frank, R Hermann, E Savino, A Varela, MG Marina Prendes.
- 44.** Rol del co-transportador sodio/bicarbonato NBCn1 mitocondrial en el corazón hipertrófico. **F Carrizo Velásquez**, LA Vargas, BV Alvarez.

#### Fisiología Celular 2

Coordinador: Roxana Toriano

- 45.** Regulación de ATP extracelular de eritrocitos humanos expuestos a alfa hemolisina asociada a vesículas de membrana externa. **MF Leal Denis**, CL Alvarez, N Lauri, S Venerus Arbilla, LZ Gross, S Maté, V Herlax, P Schwarzbaum.
- 46.** Interacción entre la Aquaporina 1 y el Canal Epitelial de Sodio: la tensión de la membrana celular como un mecanismo fisiológico que modula la permeabilidad al agua. **M Lenze**, L Campana, F Costa Almar, R Goldman, M Ozu, R Toriano.





- 47.** Estudio de la migración dependiente de Aquaporina 2 (AQP2) en la línea celular renal mpkCCDc14. **T Mendivil**, N Beltramone, A Pizzoni, V Rivarola, P Ford, C Capurro, G Di Giusto.
- 48.** El Ácido araquidónico modifica la modulación del canal BK por la subunidad  $\beta 1$ : efectos sobre la activación del sensor de voltaje y la apertura intrínseca del canal. **M Moncada**, P Martín, N Enrique, V Milesi.
- 49.** Contribución del  $\text{Ca}^{2+}$  extra e intracelular a la regulación del volumen en células de Müller. **V Netti**, JM Fernández, M Kalstein, A Pizzoni, G Di Giusto, V Rivarola, P Ford, C Capurro.
- 50.** Corrientes Catiónicas Mediadas por la Policistina 2 (TRPP2) en Células Epiteliales Renales LLC-PK1. **PL Pérez**, MN Scarinci, M Smoler, Q Dai Xiao, MR Cantero, HF Cantiello.
- 51.** Efecto de la toxina HlyA sobre la homeostasis del ATP extracelular en glóbulos rojos. **M Sacerdoti**, MF Leal Denis, S Maté, V Herlax, P Schwarzbaum, MV Espelt.

## Metabolismo y Nutrición

**Coordinador: Andrea Chisari**

- 52.** La malnutrición proteica durante la programación fetal predispone a sufrir NASH y/o NAFLD en la adultez con un marcado dimorfismo sexual. **SM Echarte**, R Abalo, E Motta, S Campisano, A Chisari.
- 53.** Relación entre masa grasa, masa magra y mineral óseo en mujeres postmenopáusicas de Salta. **MF García Bustos**, GR Pérez Abud, SR Tamayo.
- 54.** La administración crónica de una mezcla antioxidante previene el incremento de la presión arterial sistólica en ratas con síndrome metabólico experimental por fructosa. **LM Linares**, ML Wallinger, V Zuccarella, PN Viglione, OJ Ponzo, CF Reyes-Toso.
- 55.** Estudio antropométrico piloto en estudiantes de la carrera de medicina del Instituto Universitario italiano de Rosario. **MR Marusso Fizzani**, F Maiz, FT Ruiz, TF Pellizzer, S Lelli, ER Ricelli da Rocha, CD De La Vega Elena, G Venera.
- 56.** Efectos de melatonina y agomelatina en dos modelos experimentales de síndrome metabólico incipiente y definido desarrollados por la administración de diferentes concentraciones de fructosa en el agua de bebida. **PA Scacchi Bernasconi**, B Zambudio, N Pellegrini, G Busch, J Torres Batán, P Scacchi, RM Reynoso.

## Fisiología Renal

**Coordinador: Valeria Rivarola**

- 57.** Efectos de diazepam sobre la expresión de la proteína de estrés térmico HSP70 en riñones de ratas diabéticas. **P Rossi**, S Molinas, G Pisani, L Trumper, L Monasterolo.
- 58.** Efectos de estradiol en cultivos primarios de células epiteliales de la corteza renal humana. **D Sánchez**, L Márquez, FR Ibarra, C Silberstein.

## Oncología

**Coordinador: Cristián Favre**

- 61.** La hormona de crecimiento modula los niveles de Galectina-1 en el hígado tumoral. **ML Bacigalupo**, VG Piazza, S Otero, AI Sotelo, JG Miquet, MF Troncoso.
- 62.** La restricción de glucosa potencia el efecto de metformina sobre la supervivencia y migración de células derivadas de hepatocarcinoma. **AC Ferretti**, F Hidalgo, F Tonucci, E Almada, MC Larocca, C Favre.
- 63.** Estudio Bibliométrico sobre la Producción Científica Argentina sobre Cáncer a través de las Bases de Datos MEDLINE y LILACS. **RP Juárez**, RM Barrere.



Ministerio de  
**Educación**  
Presidencia de la Nación



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS



**CIC** COMISIÓN DE  
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA